

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Toxicología y Legislación sanitaria



TESIS DOCTORAL

**Estudio médico-legal de los marcadores genéticos empleados
en investigación de paternidad y criminalística : tesis
doctoral**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

J. Carlos Bustamante Montoro

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
Facultad de Medicina
Departamento de toxicología y Legislación Sanitaria

"ESTUDIO MEDICO-LEGAL DE LOS
MARCADORES GENÉTICOS, EMPLEADOS EN
INVESTIGACIÓN DE PATERNIDAD Y
CRIMINALÍSTICA"

Tesis doctoral : J. Carlos Bustamante Montoro. 1.993

A mis padres

† Teófanés

Enriqueta

A mis hermanos

Nelly

Agustín

Roberto

María

Guillermo

Diana

Abraham

A mis sobrinos

† A HUGO, mi sobrino.

AL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL DEL PERU

Expreso mi agradecimiento a mi Director de tesis Doctoral, el profesor Dr. José María Ruiz de la Cuesta y Cascajares, Jefe del departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, mi maestro, que con su estímulo ha hecho posible la realización de esta tesis doctoral, pero sobre todo por su amistad, su constante apoyo, sus consejos y haber depositado su confianza en mi y haberme transmitido sus conocimientos, con incontables, horas de dedicación para mi aprendizaje.

Así mismo quiero agradecerle sus sabios consejos, junto a la generosa donación de su valioso tiempo. José María ¡Muchas Gracias!.

A las Doctoras Ana Gremo Roselló, Isabel López Abadía, al Doctor José Antonio Sánchez, Doctor Bernabé Roldán, la Doctora Teresa Ramos, profesores de este Departamento de Medicina Legal, gracias por su atención y amabilidad con la que fui acogido desde el primer momento y haberme dado la oportunidad de aprender también de ellos.

A mis compañeros de departamento de Medicina Legal y Toxicología que me prestaron su apoyo en diversas formas y que no los nombro específicamente, porque creo que no es necesario y ellos lo saben.

A mis amigos por aguantarme en los momentos más difíciles y sobre todo por el intento de enseñarme a vivir.

INDICE DE TEMAS:

*Introducción. Pags: 1 -6.

* Capítulo I . Pags: 7 - 17

- Historia de la Transfusión.
- Antecedentes históricos y biológicos de la paternidad.

* Capítulo II Pags 19 - 51

- Gregorio Mendel : Fundador de la Genética.

* Capítulo III : Pags: 53-62

- Karl Landsteiner : Padre de la Inmunohematología y de la Inmunoquímica.

* Capítulo IV : Pags: 64 - 80

- Fenotipado de Manchas Sanguíneas y Biológicas

* Capítulo V : Pags: 82 - 133

- Investigación de la Paternidad.

*CapítuloVI : Pags: 135 - 155

- Bosquejo Histórico del cálculo de Probabilidades de la Paternidad.

* Capítulo VII : Pags: 157 - 160

- Justificación del Tema y Resumen.

* Capítulo VIII :

- Apéndice : Tablas de Frecuencias Génicas.
- Casos de Paternidad Resueltos
- Ampliación de la Bibliografía

INTRODUCCION

La Medicina Legal es una disciplina que engloba ámbitos de estudio diversos, entre ellos la Biología o Hemogenética Forense.

La Biología Forense tiene hoy en día dos grandes campos de actuación: por un lado la realización de pruebas biológicas de paternidad y por otro el estudio de indicios biológicos hallados en relación con sucesos criminales.

En el primer caso, la investigación se realiza sobre muestras sanguíneas extraídas, del presunto padre, de la madre y del hijo, aunque también pueden realizarse (con menor rendimiento) partiendo solo de las muestras del padre y el hijo; e incluso en casos complejos a partir de familiares de un presunto padre fallecido. En el segundo caso, el estudio de indicios, la investigación parte, no ya de nuestra sangre, sino de diversos tipos de material biológico que en muchas ocasiones se encuentra en escasa cantidad y en distintos grados de deterioro por antigüedad y contaminación. Este material biológico puede ser sangre, espermatozoides, pelo, orina, heces, saliva... y normalmente la primera actuación al respecto es la identificación de ese material más o menos conservado.

Por un lado las pruebas biológicas de paternidad incluyendo un repaso histórico; las bases científicas de las técnicas utilizadas así como las normas básicas de la Teoría de Probabilidades se utiliza cuando no hay exclusión para hacer el cálculo de la probabilidad de la paternidad (inclusión). Por otro lado se estudian los principales indicios biológicos que llegan a un laboratorio de biología forense, que con frecuencia son: manchas de sangre, manchas de espermatozoides y pelos. Los demás indicios biológicos (orina, saliva, heces...) son infrecuentes en relación con los tres mencionados y por evitar extender el estudio, se han omitido.

Se comentan así mismo las pruebas mas clásicamente utilizadas en el diagnóstico biológico de la paternidad y en la identificación individual de indicios, como son los grupos sanguíneos eritrocitarios, los polimorfismos proteicos, las enzimas eritrocitarias y la HLA.

Los grupos sanguíneos y, especialmente el sistema ABO que se conoce desde principios de siglo, han sido ampliamente estudiados y su manejo hoy en día es seguro y sencillo, con la ventaja de poderse analizar en muestras biológicas muy antiguas y deterioradas, incluso en el estudio de un único pelo. Así mismo, pueden resultar importantes desde el punto de vista de la Medicina Legal debido a los problemas transfusionales y la legislación al respecto.

Se sabe más de grupos sanguíneos que de cualquier otra variabilidad humana, y gracias a curiosas y rarísimas anomalías, por ejemplo: fenotipos Bombay, se ha podido desentrañar, desde hace más de 30 años, el modo secuencial de acción del gen responsable de los grupos ABO hasta que se produce su producto final: el antígeno eritrocitario.

Gracias a los estudios sobre su distribución en las distintas partes del mundo, se ha rastreado el origen de las razas y los movimientos migratorios de nuestros antepasados.

En terapéutica transfusional y en la esfera de los trasplantes de órganos, los grupos ABO (y en su acepción más amplia el sistema HLA) sirven para dar la necesaria seguridad, cumpliendo las predicciones de LANDSTEINER en su inmortal monografía de 1901. Gracias a ellos se pueden prever los resultados racionalmente, guiando la actuación médica "bajo las reglas del arte".

Una vertiente de gran interés Medico-Legal, no considerada en esta tesis, pero en la que hemos tenido que peritar en múltiples ocasiones, son las querellas "por imprudencia temeraria", por error transfusional. Cualquier médico que violase los postulados de LANDSTEINER se vería afectado por lo que en el lenguaje forense anglosajón se entiende por "res ipsa loquitur" (los hechos hablan por si solos), y no tendría defensa posible.

En patología se han encontrado multitud de enfermedades y taras ligadas a los grupos sanguíneos (si bien en este campo el HLA se ha mostrado más útil), y, gracias a ello se inició el mapeo de los cromosomas. Hoy muchos centenares de genes están asignados con precisión a determinado par cromosómico, y a partes concretas de tal cromosoma.

La feliz etapa se inició en 1968, cuando DONAHUER y colaboradores asignaron el grupo Duffy al cromosoma número 1, y precisamente a una región de los brazos largos cercana al centrómero. En la familia investigada dicho cromosoma aparecía, en esta región, muy elongado, sin el "enrollamiento" esperado. Como la catarata pulverulenta zonular fue reinvestigada, en 1963, por RENWICK y LAWNER, en una familia rastreada desde 1909, y se consiguió, por estudios de alta matemática, relacionarla con los grupos Duffy, dicha enfermedad fue asignada, también, al cromosoma 1. Ya en 1972, gracias al grupo Duffy, se habían asignado 10 marcadores al cromosoma 1. De esto se deduce que apenas se logra ubicar con seguridad un locus, pronto multitud de nuevos locus, se agrupan a su alrededor como racimos.

En Medicina Legal los grupos sanguíneos son el instrumento más eficaz en el campo de la biología forense, y en muchos aspectos de la criminalística. Si bien, una "buena" huella dactilar encontrada en la escena del crimen, es capaz de aclararlo y señalar al criminal, no se puede olvidar que con mucha mayor frecuencia lo que deja el agresor suele ser una mancha de su sangre, pelos o manchas biológicas, y a través de estos indicios biológicos rastreamos al criminal.

Desde la segunda década de este siglo disponemos de técnicas viables para la investigación del grupo ABO en las manchas de sangre, y mediante solo este análisis se puede excluir a un inocente sospechoso, en el 60% de las ocasiones. No obstante el que el grupo de la mancha coincida con el del sospechoso no suele tener valor probativo, habida cuenta que la coincidencia en el grupo es bastante

frecuente, solo por el azar. Solo en el caso que el sospechoso fuese del grupo AB (y mejor aún A₂B cuya frecuencia en España están solo del 0,6%) y de ese mismo grupo fuese la mancha, el examen tendría valor identificativo estadísticamente. Como fácilmente se comprenderá los grupos que nos solemos encontrar son los más frecuentes: "A" y "O", por lo que aquí solo tiene valor la exclusión.

Hoy día, merced a las sensibilidades técnicas, que se describen en esta tesis, y su aplicación a otros sistemas de grupos sanguíneos, se logra, a partir de una mancha muy pequeña, determinar suficiente número de marcadores de grupo sanguíneo (A1, A2, B, D, C, c, E, e, M, N, S, s, K, Jk^a y Fy^a), para que, en la inmensa mayoría de las ocasiones, se exonere a un inocente o se señale a quién pertenece dicha sangre. Las microtécnicas empleadas y el número de marcadores en uso, permiten señalar al culpable (si dejó una mancha suya) con una probabilidad superior al 99%.

Aunque todo lo dicho hasta ahora se refiere a manchas de sangre, con mucha mayor razón podremos extender la fuerza identificativa de los grupos sanguíneos y demás polimorfismos, si trabajamos con sangre fresca. Este es el campo Médico-Legal de la Investigación de la Paternidad, que se desarrolla en el capítulo último de la presente tesis, en el que se demuestra claramente que un laboratorio, bien equipado y con peritos adecuadamente preparados, brinda a un hombre inocente, injustamente acusado de la paternidad sobre un niño, más de un 99% de oportunidades de demostrar su inocencia. Cuando con la amplia batería que empleamos no se logra excluir a un hombre como padre del niño bajo análisis, hay argumentos estadísticos para indicar que es padre biológico de tal criatura, ya que con tal tipo de análisis quedan excluidos más del 99% de los hombres y él se encuentra en el escaso grupo de "hombres sin excluir". En estos casos se procede a hacer el cálculo estadístico-matemático, fundado en el teorema de BAYES y en las frecuencias génicas de los marcadores presentes en el niño de "obligada procedencia paterna" (todos los cuáles los posee el acusado, pues de otra manera quedaría excluido), de sus probabilidades de Paternidad positiva. Prácticamente siempre, en estos casos, somos capaces de superar el dintel del 99,75% de probabilidades de paternidad, que señala el mojón de 'una paternidad prácticamente demostrada', según los predicados verbales del profesor Hummel.

Hoy por hoy, no tenemos prueba alguna que señale que tal niño es hijo de tal hombre o que tal mancha procede de tal persona. No cabe duda que ni en los casos más favorables (existencia de varios marcadores de muy baja frecuencia en el padre y en el hijo, y ausencia de tales marcadores en la madre), en que hemos llegado a asignaciones de paternidad con unas probabilidades del 99,999999 %, se puede afirmar que ningún otro hombre en el mundo "puede" poseer la colección de marcadores encontrados en el presunto padre y en el niño. Pero no hay, ni de lejos, ninguna otra pauta alternativa de investigación científica.

Hay que matizar el hecho que en ningún Tribunal del mundo depende la sentencia de una seguridad en las pruebas del 100%. Una seguridad del 99.75% se ha mostrado como firme, ya que excluyendo del caso estudiado, el que otros varones consanguíneos (por ejemplo:hermanos del probable padre) se encuentran implicados, no se ha dado

jamás que, con tal cifra, el señalado como padre biológico, en los miles de peritaciones que por otros conductos se pudo hacer una comprobación adicional de la paternidad o no paternidad del varón incriminado. ~~no fuese el verdadero padre.~~ Si se hiciesen todos los polimorfismos descubiertos hasta la fecha, difícilmente (a excepción de gemelos monozigóticos) se encontrarían dos hombres que coincidiesen en todos ellos. Pero tal "expansión" del análisis resulta inviable por el precio, por el utillaje y por la necesaria preparación de los peritos, los cuáles solo deben acometer aquellos sistemas en los que tengan suficiente experiencia y medios.

Se está llegando a pasos agigantados a hacer realidad las predicciones de LANDSTEINER sobre la individualidad de cada sangre, y el recientísimo método de análisis a través del DNA acelerará aún más la marcha hasta éste ideal.

Los que postulan que en muchos países, en los grandes centros policiales hay un formidable plantel de médicos, biólogos, químicos y físicos, para resolver los problemas prácticos que la biología plantea a la justicia, olvidan que son muy pocas las técnicas, de este área, realmente autóctonas, ya que casi todas son meras aplicaciones de las que la Medicina, en su avance incesante, va logrando, tanto en el campo de la inmunología, como en el de la genética, como en cualquier otro. Y lo mismo sucede en las técnicas químicas o físicas de aplicación forense: casi todas se nutren de la ciencia madre.

Todos los departamentos de Medicina Legal, en las Universidades de prestigio, tienen a la biología forense como la niña de sus ojos, y los nombres insignes de SCHIFF, WIENER, BOYD, DODD, PROKOP, y un largo etcétera, lo atestiguan.

Es verdad que a muchos hombres de ciencia les "repele" cualquier contacto con la Justicia en calidad de Peritos en aquellas cuestiones científicas en que descollan. Ello es debido a múltiples razones: al tiempo que pierden para sus investigaciones; al ambiente extraño en que deben desenvolverse, lo enojoso de las testificaciones procesales; la conducta "agresiva" de muchos abogados y de algún fiscal; lo difícil que es hacerse comprender por profanos en la materia que peritan, etc. No obstante, cada día es mayor el número de hombres de ciencia (médicos especialmente) que dedican parte o todo su tiempo a estos menesteres. La sociedad necesita de la seriedad y fundamento en las peritaciones. El esfuerzo de los científicos en hacer que las sentencias judiciales huyan de todo subjetivismo y se asienten en la ciencia es encomiable, y una exigencia en una humanidad civilizada.

Por otra parte la faceta "detectivesca" del científico forense atrae fuertemente. No puede olvidarse que el prototipo de los detectives, Sherlock Holmes, fue la creación literaria de un médico fracasado en su profesión, Arthur Conan Doyle, que en ese personaje plasmó al cirujano de la facultad de Edimburgo, Joseph Bell, por el que todos los estudiantes sentían fascinación. Nos refiere el eminente catedrático de dicha facultad, en la especialidad de Medicina legal, Sir Sydney Smith, condiscípulo del mismo Conan Doyle, las características de Bell:

Tenía en grado singular la cualidad de diagnosticar con aguda precisión la enfermedad del paciente; pero, además, de una sola mirada era capaz de saber su profesión y su carácter: “He aquí un caso interesante queridos alumnos” dijo con solo echar una mirada al enfermo que le acababan de llevar al anfiteatro. “Este hombre ha sido licenciado hace muy poco, y servía, con toda probabilidad, en el regimiento Royal Scott, destinado largos años en la India; lo más seguro es que perteneciese a la banda de música del regimiento y tocase un instrumento de viento”. Todo parecía arte de brujería, pero se tornaba terriblemente sencillo cuando nos desgranaba los detalles que con insuperable agudeza había aprehendido en tan breves instantes, prosigue Sidney Smith? “¿Qué como he deducido esto?” “Elemental queridos alumnos: ¿se dieron cuenta como adoptó la actitud de firmes al entrar aquí?. Un civil o un soldado licenciado hace tiempo no adopta esa actitud: por eso ha sido licenciado hace poco.

Noten el color moreno de la cara y cuello, y el tatuaje del brazo: todo sugiere que ha vivido largo tiempo en un clima tórrido y allí se hizo el tatuaje, cuyo dibujo no es de aquí. El cinturón que lleva es de los Royal Scott, y aunque lo podía haber comprado en cualquier tienda, casa con lo anterior. Su estatura es baja para ser de infantería regular, y eso me hizo pensar en su destino en la banda. Miren atentamente su pecho para observar claros signos de enfisema pulmonar...” Si hubiera sido detective hubiera convertido esa fascinante, pero desorganizada profesión, en una ciencia exacta, concluye Sydney Smith.

El médico forense no debe limitarse al escueto análisis de las muestra remitidas, en solo lo que no se solicite, sino que debe observar los hechos en su conjunto, teniendo una imaginación creativa y escrutando todos los matices que se le presenten. Por ello el tipo de análisis elegido, muchas veces, deberá ampliar el espectro y, aún, solicitar muestras adicionales o información complementaria:

Si ante una mancha contaminada por la suciedad se limita a dar como bueno el grupo que resulta de la aglutinación, se comportaría con el mismo “cerebro” que una máquina automática de tipaje. El debe saber las “trampas” que la naturaleza tiende en estos casos en que, por la ubicuidad de las sustancias ABO, cualquier resultado serológico, sin pasarlo por el tamiz de la crítica, puede resultar espúreo. Como dice el refrán “cada caso es cada caso”, y hay que saber sortear las dificultades que enmascaran el verdadero grupo que queremos buscar: unas veces determinaremos el grupo tras diluir la mancha y secar extractos de distinta concentración, sabedores que los “falsos” grupos tiene, por lo común, menor título antigénico. Otras veces, realizaremos el grupo en la zona del papel cromatográfico donde sólo hay hemoglobina y no suciedad. A veces es conveniente “transplantar” la mancha, previa maceración, a una tela limpia etc.

Ante una mancha mixta, como por ejemplo semen y secreciones vaginales, en las violaciones, deberemos tipar primero a la mujeres ABO y status secretor, y del resultado inferir si es factible deducir el grupo del semen por microeculación o es conveniente una absorción-inhibición. Una mujer “A”, “B” ó “AB” enmascarará al grupo “O” del violador o un grupo homónimo en el mismo. Una mujer “AB” y secretora, “tapa” todos los grupos del posible violador. Hace falta, pues, en estos casos, preparar test alternativos por desarrollo electroforético, para deducir de los

CAPITULO I

HISTORIA DE LA TRANSFUSIÓN.

**ANTECEDENTES HISTÓRICOS Y
BIOLÓGICOS EN INVESTIGACIÓN
DE LA PATERNIDAD.**

La Medicina, ciencia y arte de curar a los enfermos y de prevenir las enfermedades, es tan antigua como la humanidad, si bien no adquirió su rango científico hasta que se descubrió el microscopio y la alquimia se transformó en química. No obstante, desde Hipócrates, constituía un cuerpo de conocimientos sólidos, basado en la atenta observación de los enfermos y en el estudio lúcido de la historia natural de las enfermedades.

Desde sus albores, la necesidad imperiosa de curar fue el motor fundamental del desarrollo, del mismo modo que hoy día la necesidad de los trasplantes (con una cirugía ya madura para hacerlos viables técnicamente) ha impulsado vertiginosamente la inmunología para hacerlos fructíferos, la necesidad de incorporar al arsenal terapéutico a las transfusiones ha hecho que el descubrimiento de los distintos grupos sanguíneos se sucediera como un alud desde la II Guerra Mundial. No obstante, la necesidad de la sangre en forma de transfusión o bebida era percibida por el hombre desde tiempos remotos, ya que las heridas, y con ellas las hemorragias, acompañaron al hombre desde su existencia en la tierra.

Los intentos de reponer la sangre perdida duraron muchos siglos, pero no fue hasta el principio de este siglo, con el descubrimiento de los grupos sanguíneos ABO, en que las transfusiones pudieron hacerse con “conocimiento” científico, y casi sin riesgos.

Que la sangre es algo que fascinó al hombre primitivo es algo que no necesita explicación: las luchas con las fieras, los accidentes a diario ... provocaban intensas hemorragias que aterraban a los familiares y amigos, que veían, impotentes, como la víctima palidecía, perdía sus fuerzas, se enfriaba, se le embotaban los sentidos, y la vida huía de él al unísono con la sangre. No es de extrañar que la sangre fuese considerada desde siempre como “fuerza vital”, como ‘asiento del alma” etc. derivandose supersticiones que ligaban las cualidades de la persona a la de su sangre.

En Egipto se tomaban baños de sangre de animales para sanar a los enfermos y rejuvenecer a los viejos. Era creencia común en muchas culturas que se podía curar a los enfermos con la bebida de la sangre de animales jóvenes o vigorosos.

La primera referencia escrita sobre lo que es una transfusión se bosqueja en una historia de OVIDIO, en la que se relata el intento de MEDEA de rejuvenecer al anciano ANQUISES, cambiándole la sangre, a través de las venas del cuello, por la de un joven. Por ello se denomina la transfusión como práctica medeana. PLINIO y CELSO refieren la costumbre de los espectadores de saltar a la arena del circo,

tras los combates de los gladiadores, para beber la sangre que manaba de las heridas de los agonizantes, creyendo que así adquirirían su fuerza y valor. De un modo idéntico, durante la revolución francesa, se ofrecía, por el verdugo, la sangre de los nobles recién decapitados, en la creencia que en ella iban las cualidades del ajusticiado. Aún es costumbre en muchas tribus africanas hacer beber al adolescente que mata su primer animal, la sangre de su "trofeo", como paso necesario para su conversión en un guerrero adulto.

En la leyenda de GENGIS KAN se relata la costumbre de sangrar al caballo del guerrero herido, para que bebiendo su sangre se repusiera pronto de sus heridas y , mientras, al caballo se le daba descanso para pastar, y que ambos recobraran el vigor con presteza para incorporarse a la pelea juntos.

En la Edad Media se lleva acabo el primer acto terapéutico por medio de la sangre, del que se tiene pormenorizada referencia fuera de toda duda: en el verano de 1492 el papa Inocencio VIII que se encontraba enfermo y viejo, resistiendose a mejorar con la terapéutica al uso, por lo que sus médicos (nos figuramos que bajo grandes presiones) se decidieron por un remedio heróico, nada menos que en suministrarle la sangre de tres robustos adolescentes. El intento falló doblemente al fallecer el Pontífice el 25 de Julio, casi a la vez que los tres desangrados muchachos. No está claro que la sangre fuera administrada por via endovenosa, más bien parece que no, que se la dieron a beber, y por ello no debe ser considerada como la primera transfusión de la historia en sentido estricto

Aunque las sangrías se conocían desde los tiempos de HIPOCRATES, la circulación sanguínea tardó mucho en ser desentrañada, y la hazaña la logró W. HARVEY en el año 1616, con sus célebres experimentos de bombeo de agua a través de las venas de cadáveres, publicando todos sus descubrimientos doce años después en una célebre e inmortal monografía (2).

La primera descripción de una verdadera transfusión (es decir, endovenosa) aparece en los escritos de ANDREAS LIBAVIUS (3) en el año 1615, en los que se narra como se unían las venas de un joven vigoroso con las de un anciano sin fuerza, por medio de dos finos tubos de plata. Parece que, aunque inventó un procedimiento apto, no lo llevó nunca a la práctica.

Como en tantos sucesos de la historia de la Medicina, surge la duda sobre la prioridad del descubrimiento y ,así, FOLLI (4) publicó un panfleto en 1690 , declarando que 26 años antes (en 1664) había inventado un método para la transfusión con el que hizo varias demostraciones ante el duque de Toscana. Más tarde, acosado a preguntas, tuvo que reconocer que nunca lo llevó a la práctica.

El doctor WREN (5) fue un hombre polifacético, célebre arquitecto además de médico, inventó un instrumento para las transfusiones y demás terapéutica endovenosa: simplemente consistía en una fina y dura pluma de ave que afilaba en un extremo, para poder perforar la piel e insertarse en la vena. El otro extremo lo cortaba perpendicularmente para ajustarlo a una vejiga (remedando los cuentagotas actuales) y poder introducir en la vena los fluidos o drogas que previamente había puesto dentro de la vejiga. Publicó su trabajo en 1657, realizando sus experimentos (en colaboración con BOYLE) con los presos del penal

de Londres. Antes había hecho múltiples ensayos en perros a los que inyectaba endovenosamente distintas drogas disueltas en agua.

Entre los años 1665 y 1666 se entabló una disputa científica en la "Royal Society" sobre la posibilidad de inyectar sangre en las venas de un perro procedente de las venas de otro perro. RICHARD LOWER (6) fue el primero en tener éxito en los experimentos ante esa comunidad científica (1665), al transferir sangre, desde la carótida de un perro, a la vena yugular de otro perro, al que previamente había desangrado profusamente. Estos ensayos los hacía con una cánula de pluma de ave acoplada a un tubo de plata, y éste a otro que a su vez terminaba en una cánula como la primera. El perro desangrado, casi moribundo, solía revivir espectacularmente con la sangre del perro donante. Sus experimentos quedaron descritos minuciosamente en la obra citada, y en la misma, se queja amargamente de que "un tal DENIS" quisiera arrebatárle la prioridad del invento.

DENIS (7) era profesor en Montpellier, y escribió por 1667 un extenso artículo, publicado en París, describiendo sus trabajos de investigación: transfundía sangre de corderos a personas enfermas. En el primer experimento, tras una sangría de 3 onzas a una joven con fiebres pertinaces, le inyectó 9 onzas de sangre de la carótida de un cordero, sanando la joven. Animado por el éxito, hizo otras transfusiones, a veces con sangre de ternera; pero resulta casi increíble la abultada cifra que da de 80 transfusiones, como mantienen sus panegiristas.

En la cuarta transfusión de la que se tiene noticias fidedigna (se trataba de un joven sífilítico), el paciente soportó bien la primera donación, pero en la segunda surgieron numerosos percances que DENIS describe con detalle de una manera magistral: el brazo se tornó doloroso y caliente, la frente se inundó de sudor frío, el pulso se aceleró y debilitó, comenzaron fuertes dolores lumbares con vómitos y diarreas... al día siguiente la orina era escasa y muy oscura, " más bien negra como el hollín". Es la primera descripción de una crisis hemolítica.

DENIS tuvo la fatalidad de querer solucionar el sombrío cuadro con una tercera transfusión, a la que pereció rápidamente el enfermo. Ahora no nos cabe duda de que las heteroaglutininas de especie del enfermo aumentaron de título y avidéz, provocando la hemólisis masiva de los hematíes de cordero transfundidos al segundo intento.

También merece nuestra atención el "caso DENIS" por ser el primer proceso legal entablado, en el mundo, como consecuencia de una transfusión: la esposa del enfermo acusó a DENIS de administrar veneno a su marido y con ello causarle la muerte. Tras un largo proceso se exoneró a DENIS de responsabilidad (le valió ser médico de Luis XIV), pero el tribunal, en su sentencia, prohibió este tipo de terapias si no iban supervisadas por la facultad de Medicina de la Universidad de París. El caso tuvo tanta transcendencia que al poco tiempo un edicto del Parlamento inglés prohibía las transfusiones, y la misma postura adoptó el estado vaticano. Todas estas trabas legales interrumpieron durante 2 siglos la investigación en este campo, aunque las posibles virtudes de la terapéutica medeana permanecieron vivas en el espíritu de muchos médicos y, como veremos a continuación, algunos arrostraron la prohibición legal impulsados por el amor a sus enfermos, gracias a lo cual nuevos horizontes se descubrieron en este proceder curativo.

La primera transfusión moderna fue llevada a cabo el 22 de Diciembre de 1818 por el eminente tocólogo inglés J. BLUNDELL (8, 9 y 10). Era proverbial su vocación y piedad por sus enfermas. Vivía atormentado por las frecuentes muertes originadas por las terroríficas hemorragias del alumbramiento, ante las que se encontraba impotente para vencer la atonía uterina, viendo como en breves minutos se desangraba su enferma. Finalmente se decidió a una actitud heroica contra la Ley: les transfundiría la propia sangre que perdían o la de un generoso donante. Por todo ello, y por emplear siempre sangre humana, se le debe considerar el padre de las modernas transfusiones. Tuvo la intuición feliz de culpar a la rapidez de la perdida sanguínea el desencadenamiento del estado de shock hipovolémico. En verdad en las trágicas atonías uterinas la parturienta se “vacía” con la rapidez de un pellejo de vino acuchillado, y el shock se instauraba velozmente. Esta hipótesis la demostró experimentalmente de una manera magistral: desangraba un perro hasta llevarle casi al estado de muerte aparente y, entonces, rápidamente le transfundía una pequeña cantidad de sangre (muy inferior a la sangría), con lo que el animal revivía, remontando el estado de shock, sin que la cantidad de sangre extraída al animal donante fuera peligrosa para éste. En esto profundizó en los experimentos iniciados dos siglos antes por LOWER.

BLUNDELL llevó a cabo más de 20 transfusiones, y al menos en cuatro de ellas logró un éxito total, volviendo a la vida parturientas agonizantes. Otro mérito de este autor es defender la hipótesis que el fracaso de las transfusiones entre especies distintas era una condición biológica preformada, lo cual demostró de la manera siguiente: desangraba a un perro y si la sangre transfundida era de cordero, de momento parecía revivir, pero pronto empeoraba y moría indefectiblemente, mientras que si la sangre transfundida era de perro, vencía el shock y sanaba.

A pesar de lo evidente de estos hallazgos, 60 años después varios autores, entre ellos GESSELIUS (11) y HASSE (12) seguían recomendando sangre de ovejas para las transfusiones. Estas recomendaciones podrían deberse, en gran medida, a lo difícil que era encontrar donantes humanos, que debían someterse a un verdadera suplicio en la extracción, mientras que era muy sencillo disponer de los corderos a los que no se les daba opción alguna para la negativa.

Los desastrosos efectos de la sangre de animal para transfusiones a personas, tuvieron confirmación serológica cuando LANDOIS (13) demostró que el suero humano hemolizaba o aglutinaba, de manera constante, las hematíes de animales. A pesar que en la inmensa mayoría de libros se da la prioridad de este descubrimiento a LANDOIS, fue en realidad un simple estudiante de medicina, CREITE (14), quien seis años antes hizo la misma observación y la publicó en una revista de poca difusión, por lo que casi paso desapercibido.

Los que preconizaban sangre de cordero se ~~avénia~~ usaron un test biológico previo a la transfusión, para su tranquilidad. La prueba consistía en inyectar unos pocos centímetros cúbicos de la sangre a transfundir, diluida al 50% en suero salino, y esperar unos minutos a ver si se producían algunos síntomas o reacciones en el enfermo que indicasen rechazo. Como todas las personas tienen aglutininas heterólogas para los hematíes de especies distintas, dependía del título y avidez de las mismas, la hemólisis y con ella la reacción transfusional.

Cuando los síntomas eran débiles o poco aparentes se procedía a inyectar, pero si durante la transfusión aparecían signos de alarma se interrumpía.

En caso de que con los test de prueba los síntomas fuesen de cierta cuantía, no se intentaba la transfusión. Como se vio claramente en el caso de DENIS, tras la primera transfusión se elevaban rápidamente el título de las aglutininas, por lo que casi nunca se podía realizar una segunda o tercera transfusión.

Conviene resaltar, y en casi ningún sitio se hace referencia a ello, que LANDSTEINER, casi a la vez que BORDET (15) en el mismo 1898, había producido aglutininas por inyección de sangre de una especie a otra, y que llevó el manuscrito para su publicación, retirándolo al comprobar que el mismo hecho era reflejado en un artículo que salió publicado aquellos días por BORDET. Todo esto explica que no fue casual el descubrimiento transcendental de los grupos ABO tres años después, pues aunque era anatomopatólogo tenía una profunda formación serológica desde años atrás.

Así, queda claro también, la pronta y cabal comprensión de su descubrimiento, al deducir que en los hematíes habría unos aglutinógenos y en el suero unas aglutininas, y que no estarían presentes el tipo de aglutininas para el que existiese el correspondiente aglutinógeno en los eritrocitos. Y añadió en el mismo trabajo que el tipaje de las sangres valdría para dar seguridad a las transfusiones y para investigar ciertos casos de violación y homicidio a través de las manchas de sangre. (16 y 17).

Fue la guerra Franco-Prusiana la que hizo indispensable la terapia mediante las transfusiones, ya que no había ningún remedio que pudiese sustituir a la sangre en caso de heridos graves. En el campo de batalla se llevaba a cabo directamente brazo a brazo.

Dos arduos problemas quedaban por resolver: el más grave era el de la propiedad de la sangre a coagular tan pronto como se extraía, lo cual causaba enojosas dificultades, a veces insuperables, al obstruir los finos conductos de los complejos instrumentos usados en la transfusión. Como consecuencia de todo ello se preconizó la transfusión directa, pero con ingeniosísimos dispositivos para poder acelerar el paso de la sangre y esquivar la coagulación. Además de la rapidez, se acudió a otros medios para evitar la coagulación, desde desfibrinar la sangre por el batido con unas paletas de alambre, semejantes a las que se utilizan para batir los huevos, al uso de productos químicos que impidieran la coagulación. El primer producto fue el bicarbonato sódico después el fosfato sódico, que si bien se mostró eficaz para evitar la coagulación, resultaba tóxico para el hombre, ocasionando 4 muertos en el año 1869, entre los transfundidos por HICKS (18).

Años después se descubrió que el citrato sódico era un excelente anticoagulante, pero resultaba tóxico a las dosis suministradas. El problema fue resuelto simultáneamente por tres equipos de investigación en 1914: AGOTE en Buenos Aires, HUSTIN en Bélgica, y LEWISHON Y WEIL en USA, según se refiere en la monografía de OTTENBERG (19) y WEIL (20). Todos ellos se percataron que usando el citrato a dosis muy bajas (concentración de solo 0,2 %), y con tal que la

cantidad administrada no fuera superior a los 5 gramos (permitía transfusiones de 2 litros y medio), el citrato era capaz de impedir la coagulación y no resultaba nocivo.

El segundo problema con el que se enfrentaban los médicos transfusores era el de las reacciones postransfusionales, a veces fatales, que se presentaban con demasiada frecuencia.

Una vez aclarado el misterio de la patogenia de dichas reacciones cuando se usaba sangre animal, quedaron los médicos perplejos por las reacciones, a veces mortales, que se presentaban con sangre humana. Este problema fue esbozado por LANDSTEINER en su trabajo de 1901, como veremos más adelante, al señalar que las diferencias individuales intragrupo ABO eran la explicación más plausible a las reacciones indeseables con sangre humana.

Aunque HECKTOEN (21) comprobó las predicciones de LANDSTEINER, fue en 1910, cuando un practicante de WEIL, llamado REUBEN OTTENBERG (22) aplicó los hallazgos en 1901, inventando las primeras pruebas cruzadas siguiendo la misma sistemática que el Padre de la inmunohepatología en su monografía inmortal. Es mérito de este practicante indicar que los tipajes pretransfusionales y las comprobaciones cruzadas debían hacerse sistemáticamente.

En 1916 ROUS y TURNER (23) descubrieron un método mucho más sencillo de tipaje, y dos años más tarde VICET (24) describe la técnica en portaobjetos.

También ROUS y TURNER (25) descubrieron aquel mismo año que añadiendo pequeñas cantidades de dextrosa a la sangre, se aumenta considerablemente el tiempo de conservación de la misma en buenas condiciones. Se había dado el primer paso para formar bancos de sangre, que no se estableció hasta el año 1937 en la ciudad de Chicago.

LUTIT y MOLLISON (26) descubren el ACD, que permitirá la conservación de la sangre a 4° C durante tres semanas.

Cuando en 1940 LANDSTEINER Y WIENER (27) por una parte y LEVINE y sus colaboradores, por otra, descubren el factor RH, (28) queda aclarado definitivamente el enigma de las reacciones postransfusionales con sangre ABO compatible, y desde entonces las reacciones graves con sangres ABO y RH compatibles, sirvió para ir descubriendo una pléyade de nuevos sistemas de grupos sanguíneos como el Kell, Duffy, Kidd, Lutherran, etc. (29 al 40).

Nuevos y fascinantes capítulos de la transfusión se abren con el descubrimiento del sistema HLA, de los antígenos plaquetarios, etc. Y el tipaje del HLA que en un principio se circunscribió a los trasplantes (y que fué descubierto por DAUSET en 1954 en reacciones transfusionales (41)) resulta primordial hoy día para la investigación de la paternidad, en los campos de las enfermedades, de la inmunogenética, de la antropología, etc.

ANTECEDENTES HISTORICOS Y BIOLOGICOS DE INVESTIGACION DE LA PATERNIDAD.

Así como la maternidad no presenta dudas siempre que se tomen las debidas precauciones durante el parto, de la paternidad puede dudar hasta la misma madre si tuvo más de un contacto sexual durante el tiempo crítico en que pudo quedar embarazada.

El interés por conocer el enigma de la paternidad es muy antiguo y viene reflejado tanto en leyes escritas como en monumentos literarios: en la Odisea, Atenea pregunta a Telémaco si es hijo de Ulises pues se le parece y la respuesta de aquel es que solo el cielo y su madre pueden saberlo. También en la obra Vida y muerte del rey Juan de Sakespeare, Felipe el bastardo contesta al rey refiriéndose a su hermano Roberto, el legítimo: "... descendemos de una misma madre como es notorio, y creo que del mismo padre; pero para su conocimiento evidente de la verdad os remito al cielo y a mi madre; sobre este punto tengo las mismas dudas que pueden asaltar a todos los hijos de los hombres..."

Como desde los milenios se sabía la imposibilidad de aclarar la paternidad, las leyes zanjaban la cuestión contundentemente: el padre era el marido.

El código de LIPIT- ISHATAR, de hace 4.000 años ya sigue esta regla y se obliga al padre a mantener a sus hijos y a estos a mantenerlos en su ancianidad.

El código de HAMMU-RABI (siglo XVII a. de C.) castigaba al hijo que dudaba de la paternidad de su padre cortándole la lengua.

En las leyes de MANU se expresa poéticamente⁹, la atribución de la paternidad al marido: "...así como hay hombres que tienen semillas y otros que tienen tierras y si aquellos las esparcen en el campo de éstos; igual sucede en el matrimonio, todos los hijos pertenecen al marido..."

En Roma queda reflejada esta norma en la célebre sentencia de Paulo: " Mater semper certa est; pater ist est, quem nuptiae demonstrant". Los galos dirimían la duda arrojando al recién nacido al río, si flotaba era hijo del marido.

El Derecho Canónico medieval sigue la norma 'pater is est...' pero no con la fuerza absoluta de las leyes 'iuris est de iure' sino con la selectiva de iuris tantum", admitiendo pruebas en contra.

Hasta 1804 en Francia los bastardos estaban al cuidado de las parroquias y Napoleón quiso establecer la igualdad con los hijos legítimos 'con tal que demostrasen quien era el padre'. La situación empeoró ya que esta "prueba" pocas veces era eficaz. Napoleón justificó su decisión diciendo que las prostitutas elegirían siempre como padres de sus hijos al más viejo y rico de sus clientes.

En España el Código Civil seguía en la estela del napoleónico y sólo admitía como prueba de no paternidad del marido: la impotencia física absoluta y permanente o el alejamiento físico de más de 300 días anterior al nacimiento; incluso aunque la mujer declarase en contra de la paternidad del marido y aunque hubiese sido condenada como adúltera. Solo se investigaba la paternidad en los delitos (via del Código Penal): casos de violaciones y estupros.

ANTECEDENTES BIOLOGICOS

Hace 6000 años en Mesopotamia ya se tenían nociones empíricas sobre la herencia biológica y se registraba la estirpe de los caballos.

También en la antigüedad se conocían taras intrafamiliares (familia de los Scipiones) etc; y en el Talmud se exoneraba de la circuncisión si el sangrado umbilical era copioso.

Pero sólo hay un intento de hacer una verdadera prueba biológica de paternidad en China. Así, en la edición de 1247 del "sen en Reku" se indica cómo debía investigarse la paternidad "...se vierten gotas de sangre del niño y del supuesto padre en una vasija de agua, si confluyen en el fondo se trata del verdadero padre y si se disuelven no es el verdadero padre...". Incluso con padre muerto; "...se desentierra y limpia un hueso largo y sobre él se dejan caer unas gotas de sangre del presunto hijo; una vez seca la sangre, si ésta resiste el lavado era el padre...".

En el siglo XIX había una gran experiencia en hibridación de plantas para mejorar el rendimiento de los frutales, pero es Mendel, quien experimentando con el guisante (unos 20.000 cruces) demuestra las 3 leyes de la herencia y la base física de la misma: las células sexuales sólo llevarían unos de los dos caracteres alternativos y el nuevo ser (unión del gameto masculino y femenino) volvería a tener los dos caracteres. La tercera ley, o del surtido independiente (aleatorio) de los diversos caracteres (genes) permite la infinita variabilidad de los individuos.

MENDEL divide los rasgos o caracteres en dominantes y recesivos: el cruce entre recesivos sólo da recesivos, mientras que el de los dominantes entre sí o con el recesivo da descendencia perfectamente aclarada por Mendel según que el dominante sea puro o híbrido.

A partir de la publicación en 1865 de la inmortal monografía de Mendel nace perfectamente estructurada una nueva rama de la Ciencia: la Genética, y ya hay base científica para las pruebas de paternidad.

Después de un eclipse de 35 años el trabajo se redescubre y comprende a principios de 1900, y meses después Landsteiner descubre el primer sistema de grupos sanguíneos: ABO. La población se podía dividir en 4 clases: "A", "B", "AB" y "O". según que tuviesen el carácter "a", el "b", los dos o ninguno en la superficie de las hematíes. El "A" y el "B" se comportan como dominantes: no puede nacer un hijo con un carácter A ó B si no lo tiene ninguno de sus progenitores. Cuando ambos progenitores carecen de esos caracteres todos los hijos serán "O".

A la vez se van descubriendo enfermedades (1902 alcaptonuria), anomalías (1904 braquidactilia) que se heredan siguiendo las leyes de Mendel. Precisamente la braquidactilia sirvió para el primer peritaje científico.

El primer juicio de paternidad en el que se usan pruebas biológicas tiene lugar en Noruega, pero en este caso se utilizaron marcadores morfológicos, ya que tanto el presunto padre como el niño presentaba branquidactilia, enfermedad de herencia autosómica dominante, y por tanto se falló paternidad positiva (según cita Mohr en 1919).

En 1924 las Cortes Alemanas y los Tribunales Suecos instan por primera vez en la historia médico-jurídica mundial a los peritos a que incluyan el ABO en las peritaciones sobre paternidad.

Se cometieron en 2 años cientos de errores judiciales por emplear una prueba biológica inmadura, por desconocimiento de la herencia y de la potencia de los antisueros. En efecto, se creía desde 1910 que ambos caracteres "A" y "B" se heredaban desde distintos pares de cromosomas por lo que una persona AB pero de genotipo Aa/ Bb podría engendrar un hijo O (aa/bb). Por estudios poblacionales el matemático Felix Bernstein demostró que A, B y O eran alelos y por tanto ubicados en el mismo locus donde una persona sólo podía tener dos alelos. por lo tanto la persona AB siempre transmitirá "A" ó "B", no pudiendo tener descendencia "O". Esto obligó a comprobar los estudios familiares donde aparecía incompatibilidad madre-hijo a la luz de la nueva teoría (madre AB con niño O, ó al revés). Se demostró en los nuevos tipamientos la existencia de errores técnicos (serológicos, por el uso de antisueros poco potentes) en la determinación antigua. Se comprobó lo cierto de la nueva teoría y se puso de manifiesto la necesidad de emplear antisueros fiables, con mayor titulación (inmunizando a donantes) y con ello los errores de tipamiento descendieron unas 100 veces.

Ya en 1927 Landsteiner y Levine descubren el sistema MN y el P. En 1930 Wiener publica una falsa maternidad (homozigosis contraria madre-hijo en el sistema MN).

En 1940 Landsteiner y Wiener descubren el sistema Rh. Aún con la incorporación del sistema Rh, MN y P, las probabilidades que tenía un hombre inocente acusado injustamente de la paternidad de un niño de demostrar su no paternidad eran del 33%.

Hoy en día con la incorporación de nuevos grupos sanguíneos, HLA, polimorfismos de proteínas sérica y enzimas eritrocitarias, las probabilidades que ese mismo hombre inocente tendría de ser excluido serían a priori superiores a un 99,9%.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- **MATTHEW A H :**
"The life and times of RODRIGO BORGIA".
Lond. Paul. 1912.
- 2.- **HARVEY W.**
"Exercitatio anatómica de Motu Cordis et sanguinis animalibus".
- 3.- **LIBAVIUS A.**
"Appendix necessarius syntagmatus ancanorum chymicorum contra Heninum Sheunemannum"
Frankfort IV :8, 1615.
- 4.- **FOLLI F.**
"Stadera medica, nelle queale eltre la medicina infusoria ed altre novita, si bilanciano le reegioni favore volo e le contraria alla transfusion del sangue"
Flor.1680.
- 5.- **WREN.**
Citado en Ch.M.ZMIJEWSKI
"Immunohematology"
3ª ed.Appleton N.Y. 1978.
- 6.- **LOWER R.**
"Tractatus de corde 1669"
cited by Keynes in ref. 9.
- 7.- **DENIS J.**
"A letter concerning a new way of curing sundry disases of of transfusion of blood' Philos.Trans.R.Soc. Lond 2: 1667.
- 8.- **BLUNDELL J.**
"Experiments onthe transfusion of blood by syringe"
Med.chir.trans. 9:56 1818.
- 9.- **BLUNDELL J.**
"Researches phisiological"
London 1824.
- 10.- **BLUNDELL J.**
"Successfull case of transfusion"
Lancet 1:431 1829.
- 11.- **GESSELIUS F**
"Die transfusion das blutes"
San Peterburgo. Leipzig. 1873.
- 12.- **HESSE**
"Die-Lamblut-transfusion beim menchen"
St.Pt. 1874.
- 13.- **LANDOIS L**
"Die transfusion des blutes"
Leipzig Vogel 1875.
- 14.- **CREITE A**
"Versuche überdie wirkung des serummeiweisses nach injektion indas blut"
Z.Rat.med. 3ª serie 36-90 1969.
- 15.- **BORDET J**
"Le mecanise de l'agglutinationAnn Ins.Pasteur.
Paris 13: (1898)
- 16.- **LANDSTEINER K**
"übeer agglutinationsercheinungen normalen mensch lichen blutes"
Wein.Woch. 14: 1132-1134 (1901).
- 17.- **LANDSTEINER K and RICHER M**
"Ueber die verwertbarkeit blut-diferenzen für forensischen praxis"
Z. Medzin 16: 85-9 (1903).
- 18.- **HICKS J B**
"Cases of transfusion with some remarks on a new method of performing the operation"
Guys Hosp rep. 14: 1 (1869).
- 19.- **OTTENBERG R**
"Reminiscence onthe history of blood transfusion"
J.MT. Sinai Hosp. 4: 264 (1937).
- 20.- **WEIL R**
"Sodiun citrate in the transfusion blood"
J.A.M.A. 64: 425- (1915)

21.-HECKTOEN L
"Isoagglutination of human corpuscles"
J. Infect. Dis. 4: 297 (1907)

22.-OTTENBRG R.
"Transfusion and arterial anastomosis"
Ann. Surg. 47: 486 (1908)

23.-ROUS Pand TURNER J R
"A rapid and simple method of testing
donors for transfusion"
JAMA 70: 1219 (1918)

24.- VICENT D.
"A rapid macroscopic agglutination for
blood groups and its value in testing
donor for transfusion"
JAMA 70: 1219 (1918).

25.-ROUS Y TURNER:
in cita num. 23

26.- LOUIT JF, MOLLISON P I
" Advantages of disodium citrate
glucose mixture as a blood
preservative"
Br. med.J. 2: 744 (1943)

27.-LANDSTEINER K and WIENER AS
"An agglutinable factor in human blood
recognized by immune sera for rhesus
blood"
Pro. soc. exp. biol N_Y 43: 223 (1940)

28.-LEVINE P and STETSON RE
"An unusual case of intragroup
agglutination"
J.Amer. med. ass.113: 126-127 91939)

29.- WIENER As and PETERS HR
"Hemolytic reactions following
transfusion of blood of the homologous
group, with three cases... responsible"
Ann.Int Med. 13:2306-22 (1940)

**30.-LEVINE P, KATZIN EM and
BURNHAM L**
"Isoimmunization in pregnancy, its
possible... fetalis"
J.Amer. Med.Ass116:925-7 (1941)

**31.-LEVINEP, VOGEL P, KATZIN EM
and BURNHAM**
"Pathogenesis of erythroblastosis
fetalis: Statical evidence"
Science. 94: 371-372 (1941)

32.- WIENER AS
"Hemolytic reactions following
transfusion of blood of the homologous
groups II" Arch. Path. 32:227 (1941)

33.-RACE RR and TAYLOR GL
"A serum that discloses the genotype of
some Rh positive people"
Natura london. 152:300 (1943)

34.-WIENER AS and SONN EB
"Additional variants of the Rh type
demonstrable with a special human
anti-Rh serum"
J. Imm. 47:461-5 (1943)

35.- MOURANT AE
" A new rhesus antibody"
Nature London 155:542 (1945)

36.-CALLENDER S and RACE RR
"A serological and genetical study of
multiples antidodies formed in response
to blood transfusion by a patient with
lupus erythematosus difusus"
Ann. Eugen. Lond. 13:102-117 (1946)

**37.-COOMBS RRA, MOURANT AE
and RACE R**
"In vivo isosensitization of red celles in
babies with haemolytic disease"
Lancet i: 264-266 (1946)

38.-WALSH RJ and MONTGOMERY C
"A new human isoagglutinin subdividing
the MN blood group"
Nature. London 160:504. (1947)

**39.-CUTBUSH M, MOLLISON PL and
PARKIN D**
"A new human blood group "
Nature Lond. 165:188 (1950)

**40.-ALLEN F H, DIAMOND L K and
NIEDZIELA B**
"A new blood group antigen"
Nature Lond. 167:482 (1951)

41.-DAUSSET J
"Etude du facteur inhibiteur de la leuco-
agglutination"
C R Soc. biol. Paris Compt Rend. 148:41
(1954)

CAPITULO II

GREGORIO MENDEL:

FUNDADOR DE LA GENÉTICA

COMUNIDAD DEL CONVENTO AGUSTINO DE SANTO TOMAS



MENDEL 3° por la derecha (con la flor del Pisum en la mano)
El Abad NAPP, sentado delante de Mendel. Era el Director de enseñanza de toda Moravia, e hizo del Monasterio la estación experimental del modelo de toda Austria.
En este monasterio nació la genética y se hicieron las primeras predicciones metereológicas de Europa bajo la dirección del mismo MENDEL.



GREGOR JOHANN MENDEL
(1822-1884)

Nació en Hyncice entre
Moravia y Silesia.

Ingresó como Agustino
en el monasterio
de Brümm en 1843.

En el jardín del monasterio
(en la foto)

comienza en 1854
sus célebres experimentos,
y los acaba en 1863,

leyendo su trabajo en 1865.
Nombrado Abad del Monasterio
en 1867,
a la muerte del Abad Napp.

40 *Inventar*

Versuche über Pflanzen Hybriden

von
Gregor Mendel.

(Vorgelesen in den Sitzungen am 8. Februar 28. März 1865.)

Entstehung. Bemerkungen

Diese Versuche sind zu Pflanzen die sich von
einander unterscheiden in eine Reihe von Merkmalen zu beziehen.
wobei die Kreuzung zu den Pflanzen, welche die
beobachtet werden sollen. Die auffallende Regelmäßigkeit,
mit welcher dieselben Hybridenformen immer entstehen,
so oft die Kreuzung zwischen gleichen Eltern erfolgt, gibt
die Grundlage zu weiteren Experimenten, deren Aufgabe
es war, die Entwicklung der Hybriden in ihren Nachkommen
zu verfolgen.

Diese Aufgabe sollte sorgfältig betrachtet, um Hindernisse,
Gärten, Herbar, Lenz, Michner u. a. einen Teil ihres
Lebens mit einer mühsamen Arbeit zu versehen. Man hat
bei fast Gärten in seinem Herbar, die Kreuzungszüchtung
in Pflanzenzüchtung sehr sorgfältig beobachtet und
in der letzten Zeit werden von Michner gründliche
Herbarisierungen über die Herkunft der Pflanzen gemacht.
Es ist aber noch nicht gelungen ist, ein allgemeines
gültiges Gesetz als für die Bildung und Entwicklung der
Hybriden aufzustellen, so dass das nämliche Merkmal
aufzuweisen, die Kreuzung der Aufgabe kommt und die
Eigenschaften zu verändern muß, mit denen Pflanzen

Primera página manuscrita por el propio MENDEL. De su inmortaral monografía, para ser leída en dos sesiones: el 8 de febrero y el 8 de marzo de 1865, ante la Sociedad de Investigación de Brno, que había fundado MENDEL en 1861.
Desde el Monasterio hizo MENDEL en 1877 la primera previsión metereológica realizada en Europa. En este campo, MENDEL era una autoridad indiscutible.

$V_1 = 37$
 $g = 37 \frac{3}{4}$
 $gV_1 = 75 \frac{3}{4}$
 $V_1 W = 150$
 $gW = 150$
 $W = 150$

~~$V_1 + gV_1 = 112$ *Viol* 93~~
 $V_1 W + gW = 300$ *sup Viol* $250 - 50$
 $W = 150$ *Mass* $166 + 16$
 $gV_1 = 75$ *o B* $65 - 10$
 $g = 37$ *dB* $27 - 10$
 $V = 37$ *Viol* $93 + 56$

340 $6V \& V$ 351 $\frac{7}{12}$ *Nael*
 92 B 100 $\frac{1}{6}$ $\frac{7}{12}$ *Loime t*
 166 W 150 $\frac{1}{4}$ $\frac{3}{12}$ *traum*
cross

$x: 305 = 59:296$
 $\frac{59}{296} \frac{4}{5}$
 $\frac{152}{179955:296=61}$
 340

$W 150$ $\frac{1}{4}$ W
 $6B 75$ $\frac{1}{8}$ gV_1
 $dB 37$ $\frac{1}{16}$ g
 $6V 300$ $\frac{1}{2}$ $gW + V_1 W$
 $V 37$ $\frac{1}{16}$ V

$\frac{75}{150}$
 $\frac{1}{4}$ *linde D. d. d*

Sehr l
von auch die Welt mill nur
Der *schon hinhalt bis*

A la muerte de MENDEL, en 1884, le sucede como Abad en el Monasterio el padre ANSELM RAMBOUSEK, que ordenó quemar todas las notas y correspondencia de su antecesor.

De las pocas notas manuscritas por MENDEL, rescatadas de los Archivos oficiales por el padre ANSELM MATOUSEK, ofrecemos, esta "joya"

El siglo XX se abre con dos descubrimientos capitales: el primero es el descubrimiento por tres investigadores, simultáneamente del inmortal trabajo de Mendel (1), y el otro es el anuncio al mundo del primer sistema de grupos sanguíneos (el ABO) poéticamente LANDSTEINER. Con el primero se inaugura una rama esencial de la biología, mientras que con el segundo nace la inmunohematología.

Para la Medicina Legal, ambos descubrimientos son capitales. Ninguna investigación de paternidad podía tener rigor científico hasta que MENDEL desentrañó las Leyes de la Herencia. Pero tales Leyes no tendrían su enorme aplicación práctica sin la "herramienta" de los grupos sanguíneos, que siguiendo en su herencia las Leyes de Mendel, se convertirían en los marcadores genéticos adecuados para este tipo de investigaciones. Lo mismo podemos decir en la otra vertiente de la biología forense: la investigación de crímenes o violaciones a través del estudio de manchas secas de sangre o de otros fluidos biológicos.

Por ello, MENDEL y LANDSTEINER forman las piedras angulares, no solo de las ramas del saber que fundaran, sino de sus múltiples aplicaciones en la Medicina Legal moderna.

GREGOR JOHANN MENDEL nació en Hyncice, pueblecito limítrofe entre la Moravia y la Silesia del antiguo imperio austrohúngaro, en el año 1822. Desde 1610 tanto Moravia como Silesia formaban parte de Austria. Nació en una familia de agricultores de la clase media, siendo su padre muy entendido en el cultivo de los frutales. MENDEL aprendió las primeras letras con el párroco de la región de Vrazné, cabeza de la comarca donde estaba ubicado su pueblecito natal. Este sacerdote era un verdadero experto en fruticultura y de él aprendió MENDEL muchos conocimientos en hibridación. El niño MENDEL se convierte en el discípulo preferido y más aventajado del párroco (Schreiber), quien lo recomendó, años más tarde, a la escuela preparatoria de bachiller de Kipnik, a 20 Km. de su pueblo natal.

Allí llega MENDEL a sus 10 años, y el sacrificio económico de su padre es considerable, ya que tenía que entregar el producto de tres días a la semana, al señorío donde trabajaba. La escuela estaba dirigida por padres Escolapios, y a ella sólo acudían los muchachos más inteligentes de todo el contorno. MENDEL acaba el primero de la clase con matrícula de honor en todas las asignaturas, en los 6 años de que consta el bachiller. Así pues en el año 1840 es un flamante bachiller, que recibe el premio "Prima classin cum eminentia".

Dos años antes su padre había tenido un grave accidente laboral por lo que no le puede ayudar, recurriendo MENDEL, para no dejar sus estudios, a dar clases particulares en una academia, para sufragarse sus estudios. Tal esfuerzo y angustia minaría la salud y el equilibrio psicológico de MENDEL, hasta tal punto que, cuando inicia el preuniversitario (dos cursos y a 40 Km. de su casa) cae enfermo de depresiones y pierde un curso. En esos dos años estudia Filosofía, y al terminarlos, en 1843, decide hacerse sacerdote 'para verse libre de las angustias económicas de la existencia'.

MENDEL ingresa en la abadía-monasterio de Brün (hoy perteneciente a Checoslovaquia con el nombre de Brno), recomendado por su profesor de Física (del Instituto preuniversitario de Filosofía) FRANZ como "mi mejor alumno". Tiene nuevas depresiones nerviosas y suspende el examen de estado, pero el mismo catedrático que le suspende, BAUGARTNER,, escribe al abad del monasterio NAPP instándole para que lo vuelva a enviar," pues vale la pena". Regresa y se matricula dos Años de oyente el 1851, asistiendo a clases y cursos de Física, Zoología, plantas, Botánica, Química (tanto analítica como general), microscopia, experimentos, paleontología, matemáticas, meteorología y estadística.

A su vuelta al monasterio en 1853, es nombrado profesor interino de ciencias naturales y física, en el Instituto alemán del estado.

NAPP escribe al Obispo para liberar a MENDEL de sus obligaciones sacerdotales: " acerca de este religioso extraordinariamente dotado en el aspecto científico pero sin cualidades para el apostolado, ya que a la vista de los enfermos le sobrecega una timidez invencible, cayendo él mismo seriamente enfermo.

Gracias a NAPP la humanidad tendría un gran científico.

Así como la mayoría de los hombres de ciencia adquieren celebridad para toda la vida de investigación, MENDEL es inmortal por una pequeña monografía de 44 páginas, y de ellas sólo 30 destinadas al trabajo en sí. En ella quedan resumidos 8 años de fructífero trabajo, constituyendo una de las cimas del genio humano. Aunque su trabajo se postula en forma de hipótesis, y se acoge a la benevolencia del lector para que juzgue si "el plan de los experimentos es el más adecuado", no cabe la menor duda, y MENDEL era consciente, que toda la monografía está formulada con aires de perfección.

No solo anuncia el descubrimiento de las proporciones numéricas en que se dividen los híbridos en las sucesivas generaciones, sino que en aras de la más sublime creatividad penetra en las entrañas del misterio de la naturaleza deduciendo, de manera admirable, las bases físicas de la Herencia, muchos años antes que los cromosomas apareciesen en el microscopio (1902). Y todo ello lo hace con unos métodos y estilo de observación y experimentación totalmente inéditos, sin posibilidad de superación por aquel tiempo. Su teoría fundamental de la Herencia permanece inmutable, y todo su trabajo es un "edificio" de armonía suprema donde cada hallazgo va adquiriendo su significado definitivo.

Todo ello lo llevó a cabo en un pequeño jardín de su monasterio de solo 7 x 35 metros (figura adjunta), sin equipo colaborador (solo para las labores mecánicas le ayudaba algún frailecillo), pues ninguno de sus incondicionales oyentes a la lectura de su trabajo captaron el significado del mismo, y los más destacados científicos de entonces solo vieron en el trabajo “ el supuesto hallazgo de unas relaciones numéricas”. Por eso el triunfo de MENDEL es el de un hombre solo, permaneciendo su escrito inmarcitable con la misma frescura del 8 de febrero de 1865, en que fue leído.

Resulta un enigma el hecho que durante 34 años permaneciera en el olvido, a pesar que, luego, se encontró en más de 120 bibliotecas de sociedades científicas. Sobre todo porque es un modelo de orden y claridad con que son expuestos los sucesivos descubrimientos. MENDEL empleó magistralmente el modelo científico: formuló sus hipótesis con claridad, las sometió a experimentos adecuados, examinó y constató la coherencia de las mismas con los resultados obtenidos, diseñó nuevas pruebas para las nuevas hipótesis que surgían ante su genial percepción, y las sometió a nuevas y rigurosas pruebas (retrocruces) que le abrían el misterio de las leyes de la naturaleza... y sugirió nuevas pruebas adicionales. Al enfrentarse con otras especies, que no mostraban las características del *Pisum*, adelanta una hipótesis explicativa que se mostró la correcta.

Muchísimos científicos antes que MENDEL habían estudiado los cruces de plantas y de animales y observaron su descendencia, pero las conclusiones de todos ellos fueron incompletas y confusas. MENDEL tuvo éxito por su intuición y metodología: seleccionó rasgos puros y comenzó por lo más sencillo (cruce de plantas que solo diferían en un rasgo). Desde el principio se percató que “había de contarse absolutamente todos los descendientes”, para poder, así, deducir las proporciones. Penetró en lo abstracto, pues dedujo conclusiones, que la mera razón normal no permitiría: como se quejaba por carta al célebre botánico Carlos NäGELI, “no solo había descubierto las proporciones numéricas sino que había penetrado en lo racional”. Es evidente que solo un genio puede saltar desde la observación de las proporciones a deducir intuitivamente sus hipótesis de las células sexuales (polen y ovocélulas), teniendo nos “factores” (genes), que se transmiten a la descendencia por leyes fijas, sin que estos factores alternativos para cada carácter (alelos) se encuentren jamás juntos en el mismo gameto sino que se separan en las células sexuales. Es obvio que esos “factores” no eran observables y que por lo tanto se necesitaba una genial creación de la mente para formular la hipótesis cierta.

Este método hipotético-deductivo solo ha sido fructífero en manos de los grandes científicos (PASCAL, NEWTON, C. BERNARD, L. PASTEUR) pero resultó magistral en manos de MENDEL.

Es a partir del memorable trabajo de Sir R.A. FISHER de 1936 (2) sobre la obra de MENDEL, cuando esta resulta escrutada en todos sus rincones, y demuestra el más insigne biomatemático de todos los tiempos, que los miles de científicos que anteriormente lo habían estudiado, solo habían captado aspectos parciales de la misma, a pesar de que la monografía era “un modelo en cuanto al orden y lucidez con que son presentados los sucesivos transcendentales descubrimientos”.

Para darnos cuenta del genio de MENDEL, , puede bastar un párrafo del célebre artículo de FISHER: “cuando en 1930, como resultado de un estudio sobre el desarrollo de las ideas darwinianas, señalé que el sistema genético moderno (aparte de 19 aspectos especiales como la dominancia o el ligamiento) podía haber sido inferido por algún gran pensador abstracto en la mitad del siglo XIX, con tal que hubiese postulado que la herencia estaba gobernada por partículas (genes), que el material germinal era estructural, y que las contribuciones de ambos pregenitores eran equivalentes, no sospechaba que MENDEL hubiese arribado a su descubrimiento de este modo. Del examen del trabajo se puede deducir que su pronta concepción de la equivalencia de los gametos fue un factor poderoso en llevarlo a su teoría. Así su programa experimental se torna inteligible, visto como una demostración cuidadosamente de sus conclusiones. Yo pienso que si las cosas sucedieron como dice FISHER, MENDEL demostró ser genial, pero me parece que buscando sólo las “leyes generales de la herencia” se tropezó con unos resultados y unos hechos, que le hicieron ensanchar el espectro diseñado de su trabajo para ir demostrando y aclarando los nuevos escollos que iban surgiendo, y que las hipótesis de los alelos en dotación sencilla en los gametos fue una creación de la más sublime imaginación, siendo, así, doblemente genial que lo que le parece a FISHER. El maestro de la estadística añade: si una mente como la de F. GALTON hubiese conocido la monografía de MENDEL y sus métodos, el análisis experimental de la herencia se hubiese adelantado unos 25 años...

En una primera serie de experimentos cruzó plantas que solo diferían en un carácter, viendo que siempre en la primera generación, homogénea, (F_1) aparecía uno solo de los dos caracteres, es decir el dominante, pero que al autofecundar los F_1 , aparecían unos descendientes F_2 que en $3/4$ eran dominantes y en $1/4$ recesivos siendo estas plantas con el carácter recesivo engendradoras exclusivamente de prole con ese carácter recesivo en todas las generaciones sucesivas ($F_3, F_4, F_5...$). Por el contrario en ese $3/4$ de plantas con el carácter dominante las cosas ocurren muy diferentemente: aunque externamente eran indistinguibles, en realidad $1/3$ de ellas tenían prole constantemente dominante mientras que las $2/3$ restantes eran en realidad híbridos como los F_1 y con igual comportamiento.

Todo esto lo comprueba MENDEL en los 7 caracteres diferenciales elegidos, anunciando la Ley de Segregación: “las plantas híbridas, la cuarta parte dominantes puras y otra cuarta parte puras recesivas” Predijo que tras “n” generaciones de autofecundación, la prole de un híbrido tendría una proporción de plantas puras respecto de las híbridas de $2^n - 1$.

En una segunda serie de experimentos cruzó plantas que diferían en dos caracteres (por ejemplo una tenía las semillas lisas amarillas y la otra rugosas y verdes) : los resultados le permitieron establecer la Ley de Segregación independiente: “en la descendencia de los híbridos en los que hay combinados varios caracteres distintos, la relación de cada par de caracteres que se hallará en los híbridos es independiente de las demás diferencias de las dos cepas paternas originales”.

Esto lo confirmó examinando la descendencia de plantas que diferían, en diversas combinaciones de dos caracteres; así como en 3,4...Predijo, correctamente, y lo demostró experimentalmente, que entre la descendencia de las plantas híbridas para "n" caracteres, había 3^n clases de plantas.

Con la formulación y demostración experimental de la 1ª y 2ª ley, MENDEL llega a la mitad de su trabajo y, entonces, emite la teoría para explicar los resultados y las dos leyes:

- 1* Para cada caracter de una planta hay un par de "factores" (genes) hereditarios.
- 2* Estos 2 factores se heredan UNO de cada progenitor.
- 3* Los dos factores de cada par segregan (se separan) durante la formación de las células germinales, por lo que cada célula sexual (gameto) recibe únicamente un factor.
- 4* Cada célula germinal recibe con una probabilidad de $1/2$ (0,5) un factor o el otro
- 5* Los distintos factores responsables de los diferentes caracteres se asocian al azar durante la formación de las células sexuales

MENDEL, llegando a este punto añade: "estas hipótesis resultan coherentes con las observaciones". Pero a fin de obtener para estas premisas una prueba experimental adicional (a la que le estaba proporcionando el experimento natural), diseña genialmente los siguientes experimentos: dos series de retrocruzamientos que confirman la transmisión y la segregación independiente en las células del ovario y luego en las del polen.

No contento con esto, a partir de la página 30 de su trabajo pasa a experimentar con una planta distinta del Pisum, el Phaseolus, donde comprueba, en sus híbridos, las mismas proporciones que en el Pisum, por lo tanto confirmando su teoría. Pero al notar que el color de las flores adoptaba graduaciones intermedias, conjetura correctamente sobre "esos resultados enigmáticos", postulando que el color de la flor en el Phaseolus resultaría de la combinación de dos o más colores completamente independientes.

El descubrimiento simultáneo del trabajo de MENDEL, por tres botánicos, en 1900, adquiere tintes dramáticos:

Hugo de VRIES era profesor de botánica en Amsterdam, y cuando publicó su obra "La teoría de la Mutación" (3 y 4) en 1900, se convirtió en uno de los biólogos más influyentes del primer cuarto de siglo actual. Llegó a la teoría mendeliana hacia 1896, por el estudio del manuscrito de MENDEL que le pasó BEYERINCK. En Abril de 1900 publica un pequeño trabajo en francés, no citando a MENDEL y atribuyéndose el descubrimiento de la Ley de Segregación (la llama Ley de la Disyunción de De Vries). este trabajito llegó a poder de Carl CORRENS el 21 de Abril de 1900, quien sin demora, en esa noche, escribe un artículo (5) diciendo que

lo que pretendía descubrir DE VRIES ya lo había descubierto un fraile agustino en 1866. Esa misma mañana envió un ejemplar de este artículo (aún no publicado) a DE VRIES, quien en la edición alemana de su anterior trabajo cita a MENDEL.

No cabe duda que ninguno de los dos actuó con honradez, pues sabían años antes del trabajo de MENDEL: CORRENS a través del botánico NAGELI, con el que MENDEL se carteó 8 años, pues se había casado con una sobrina del mismo, y heredó la correspondencia de MENDEL a NAGELI, (ya que la inversa la había quemado el abad que sucedió a MENDEL). Mientras que DE VRIES conoció el trabajo de MENDEL en 18996 como dijimos antes. Los dos lo tenían oculto y querían plagiar y hacerse con la primacía del descubrimiento.

El tercer descubridor simultaneo fue TSCHERMAK, que aparte de esa gloria, fue un investigador mediocre que nunca llegó (a diferencia de los otros dos) a comprender cabalmente a MENDEL.

Aparte de NAGELI, con quien MENDEL se carteó durante 8 años poniéndole al corriente de sus descubrimientos, sin lograr hacerselos comprender, MENDEL fue leído, al menos, por FOCKE (6), quien en su vasto volumen, hace 15 referencias al trabajo de MENDEL, entre ellas la siguiente: "los numerosos cruzamientos de MENDEL dieron resultados muy semejantes a los de KNIGT, pero MENDEL creyó haber encontrado relaciones numéricas constantes entre los tipos de los cruces". esta cita desanimaría a cualquier investigador para buscar el trabajo de MENDEL y comprobar que "esas pretensiones" de MENDEL, eran., precisamente las universales y concretas razones:

1 : 1

1 : 3

1 : 2 : 1

9 : 3 : 3 : 1 etc

A continuación vamos a hacer un resumen comentando la monografía de MENDEL.

EXPERIMENTOS EN HIBRIDOS DE PLANTAS

(trabajo leído en las Reuniones del 8 de Febrero y 8 de Marzo de 1865)

Comienza MENDEL diciendo que la regularidad con que aparecen las mismas formas híbridas en las plantas ornamentales, cuando se ha verificado la fertilización entre especies semejantes, le sugirió experimentos para rastrear el desarrollo de los híbridos en su descendencia.

Tras enumerar los autores que intentaron lo mismo y fracasaron, a los que disculpa diciendo: "nadie que conozca la magnitud y dificultades de la tarea, puede admirarse de que aún no haya sido establecida una Ley General aplicable a la formación y desarrollo de los híbridos". Añade que en ninguno de los trabajos anteriores se determinó el número de formas diferentes de híbridos ni se clasificaron, ni se establecieron sus relaciones numéricas mutuas. "En verdad que hace falta una buena dosis de coraje para emprender esta empresa, pero ello es el único modo de resolver una cuestión cuyo significado para la historia de la evolución de las formas orgánicas no debe ser desestimado".

Antes de emprender la tarea, MENDEL delimita el método científico a seguir: "La categoría y validez de un experimento, se determina tanto por la aptitud de los medios empleados como por el medio de emplearlos".

A continuación pasa a razonar qué especie es la más adecuada al experimento:

- 1) debe poseer caracteres diferenciales constantes.
- 2) Sus híbridos deben protegerse del contacto con polen extraño.
- 3) los híbridos y su descendencia no deben tener disminuida su fertilidad.

Así mismo, manifiesta que para descubrir las relaciones que guardan los distintos híbridos entre sí, y con sus progenitores, deben contarse todos los miembros de la serie de descendientes en cada generación:

*Tras varias pruebas elige a las leguminosas (guisante jardín, o *Pisum Sativum*), porque reunía los requisitos:

*Los diferentes caracteres (formas alternativas del carácter) son constantes (no cambian de generación en generación).

*Se distinguen fácilmente con seguridad (no son más o menos sino que aparecen o no).

*Su descendencia es fértil, a partir tanto de cruces recíprocos como por autofecundación.

Y como los órganos de la reproducción están cubiertos por una quilla, se evita el polen extraño y las antenas revientan dentro del botón antes de que se abran las flores, quedando solo cubiertos los estigmas por su propio polen.

Con un poco de perspicacia vemos que es MENDEL el primero en la historia en señalar las características que debe reunir un "Marcador Genético".

La fertilización por el polen de otra planta (fertilización artificial) resulta laboriosa pero segura: basta abrir unas pequeñas tijeras al capullo (aún no desarrollado por completo), retirar la quilla con unas pincitas, eliminar con ellas todos los estambres, y espolvorear el estigma con el polen de la otra planta,

MENDEL dedica los años 1854 y 1855 a ensayar con 34 variedades de Pisum que había adquirido de vendedores profesionales de semillas, y cuando se percató de que cada semilla produce plantas constantemente uniformes (raza pura), dedica los 6 años siguientes a los experimentos propiamente dichos, seleccionando de las 34 mencionadas, 22 plantas que diferían en siete caracteres.

ORDENACION Y SECUENCIA DE LOS EXPERIMENTOS

Cuando se cruzan dos plantas, los caracteres que tienen iguales (comunes), se transmiten sin cambios a su descendencia. Pero cuando esas plantas difieren en un carácter (un par de caracteres), se forma un nuevo carácter (aunque el aspecto sea igual al de una de las plantas) que está sujeto a cambios en los descendientes.

Recalca MENDEL que su propósito era, precisamente, observar esos cambios para cada carácter diferente y deducir la ley, conforme a la que aparecen en las sucesivas generaciones. Así el estudio constará de tantos experimentos como caracteres diferentes se estudien en las plantas seleccionadas.

MENDEL enumera los caracteres diferenciales que encontró, entre unas plantas y otras, de aquellas 34 clases de semillas, que resultaron ser 15, y se prestarían, en principio a estudio

*Tallos: diferencias en longitud y color.

*Hojas: diferencias en grueso y forma.

*Flores: diferencias en posición, color y tamaño.

*Pedúnculo floral: diferencias en su longitud.

*Vainas: diferencias en color, forma y tamaño.

*Semillas: diferencias en su forma y tamaño, así como en la coloración en su cubierta (Tegumento) y albumen.

MENDEL en los dos años previos (1854 y 1855) comprueba que algunos de los rasgos diferenciales mencionados no se comportan como seguros "marcadores genéticos", pues el grosor y forma de las hojas, por ejemplo, solo presentaban diferencias en un más o menos, pero no los contrastes netos que se precisan para una clasificación segura. (fig. 3-1 y 3-2).

Finalmente seleccionó para estudio SIETE CARACTERES:

- 1- Diferencias de forma en las semillas maduras (lisas-rugosas)
- 2- Diferencias en la coloración del albumen de la semilla madura (amarilla o verde)
- 3- Diferencias en el tegumento (cubierta) de las semillas (blanco asociado a flores blancas o gris oscuro, asociado a flores violeta rojizas).
- 4- Diferencias en la forma de la vaina madura (lisa o arrugada).
- 5- Diferencias en el color de la vaina madura (verde o amarilla, y del mismo modo aparecerá el color de los tallos).
- 6- Diferencias en la posición de las flores (axilares a lo largo del tallo, o bien terminales).
- 7- Diferencias en la longitud del tallo (largo o corto).

MENDEL unió por fecundación cada uno de los caracteres contrapuestos enumerados. En todos los experimentos se hicieron cruces recíprocos; unas veces se usaba como planta semilla, la de un caracter, y otras veces se empleaba como planta polen.

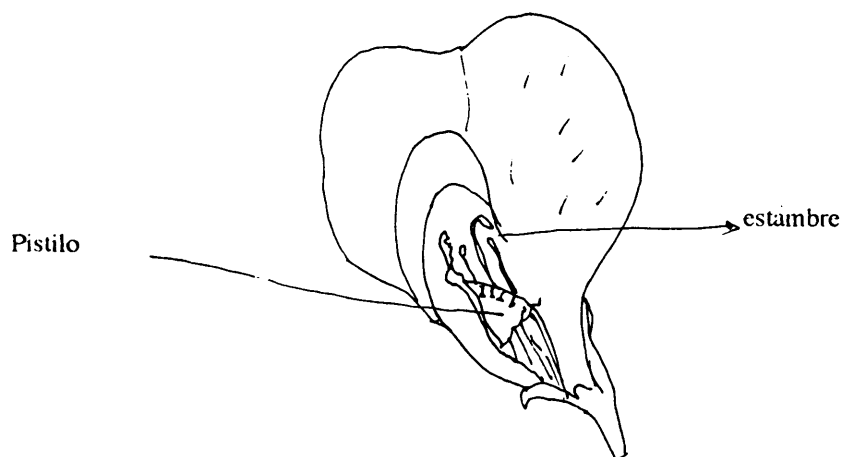
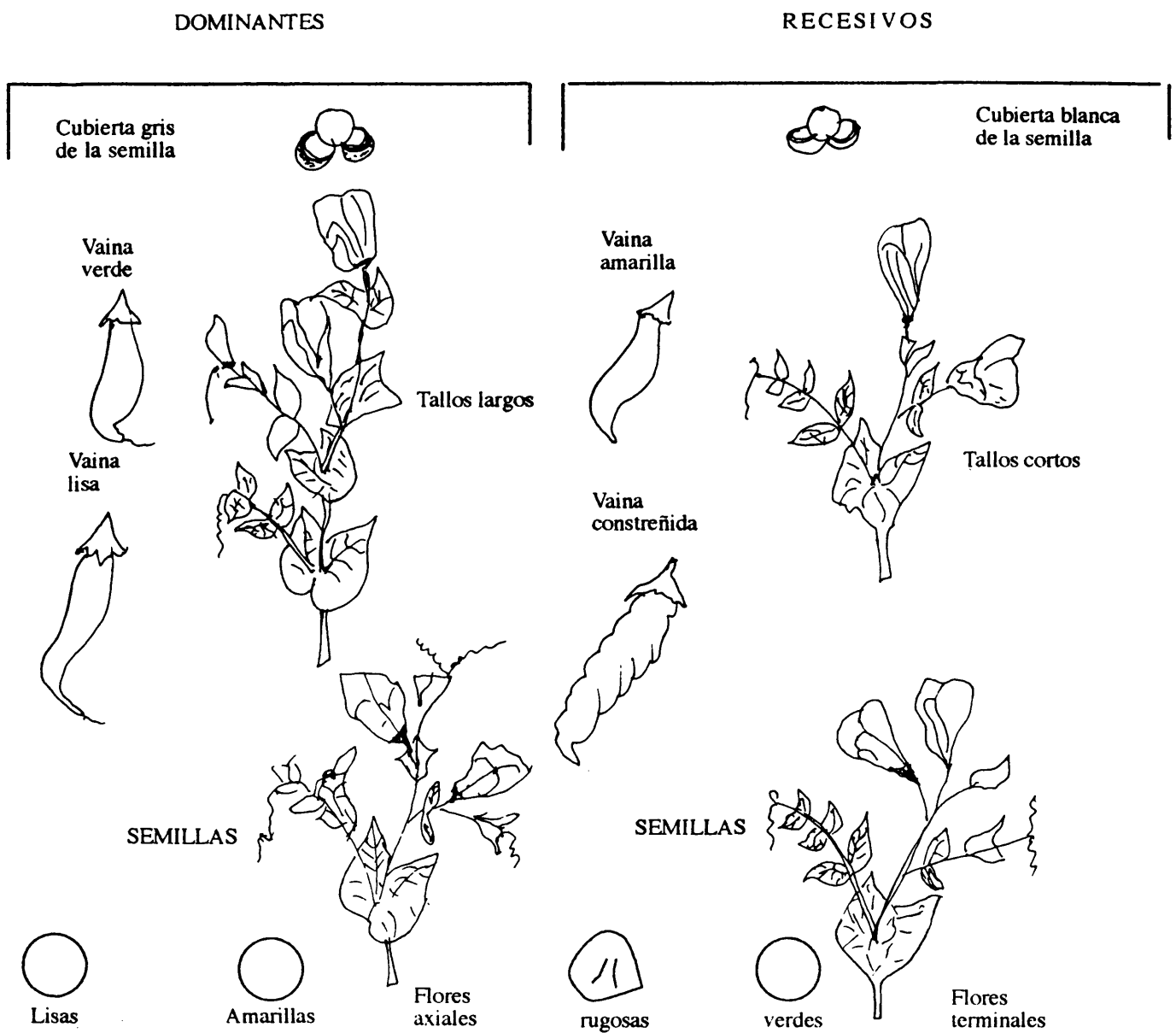
Al trabajar con formas PURAS CONTRAPUESTAS, MENDEL observó que en el híbrido del cruce aparecía siempre un caracter contrapuesto, al que llamó DOMINANTE, mientras que el otro caracter contrapuesto, al que llamó RECESIVO, porque se retiraba, no aparecía jamás en la primera generación, pero reaparecía sin modificar en los descendientes del híbrido.

De los 7 caracteres resultaron dominantes:

La semilla lisa, el color amarillo del albumen (cotiledón), la cubierta gris oscura de la semilla, las vainas lisas, las vainas verdes, las flores axiales y el tallo. largo.

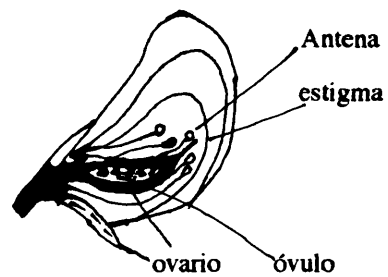
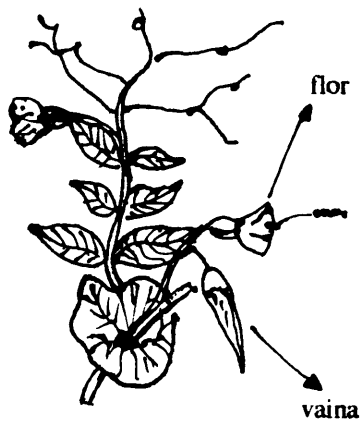
DIVERSOS CARACTERES, DOMINANTES Y RECESIVOS OBSERVADOS POR MENDEL

Fig 3-1



LOS SIETE CARACTERES SELECCIONADOS POR MENDEL

Fig 3-2




SEMILLAS


1)  REDONDAS

 RUGOSAS

2)  COTILEDONES AMARILLOS

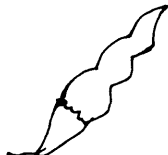
 COTILEDONES VERDES

3)  CUBIERTA GRIS
(FLORES VIOLETAS)


 CUBIERTA BLANCA
(FLORES BLANCAS)

VAINAS


4)  LISAS

 CONSTRICTAS

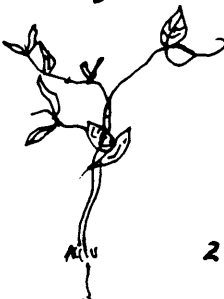
5)  VERDES


 AMARILLAS

TALLO

6)  vainas y flores
axiales
(a lo largo del tallo)

 vainas y flores
terminales
(en el extremo del tallo)

7)  gran longitud (2 mts)

 Enanas (30 cm)

I PRIMERA GENERACION A PARTIR DE LOS HIBRIDOS (F₂)

En esta generación, además de los caracteres dominantes, aparecen los recesivos, y su proporción es de 3 a 1 (de cada 4 plantas 3 serán con carácter dominante y solo 1 llevará el carácter recesivo) sin haber formas intermedias. Fig. 33.

Las proporciones numéricas para cada carácter son:

1º Forma de la semilla: Se habían hecho cruces entre 15 plantas (un total de 60 fecundaciones) y nacieron 253 híbridos (F₁). De estas 253 plantas que dieron 7.324 semillas, en el segundo año 5.474 resultaron lisas y 1.850 rugosas, con lo que la proporción es de 2,96: 1.

2º Color del albumen de la semilla: se habían cruzado 10 plantas con un total de 58 fecundaciones, y de ellas nacieron 258 plantas híbridas (F₁), que dieron 8.023 semillas, de las que resultaron ser: 6.022 amarillas y 2.001 verdes (proporción de 3,01 : 1)

MENDEL da una referencia pormenorizada de las primeras 10 plantas de cada experimento, y de dos casos extremos en cada experimento (en el primer experimento hubo una planta con 43 semillas redondas y solo dos rugosas, y otra planta con 14 redondas y 15 rugosas. Mientras que el segundo experimento los casos extremos fueron: una planta con 32 semillas amarillas y solo una verde, y otra planta con 20 amarillas y 19 verdes).

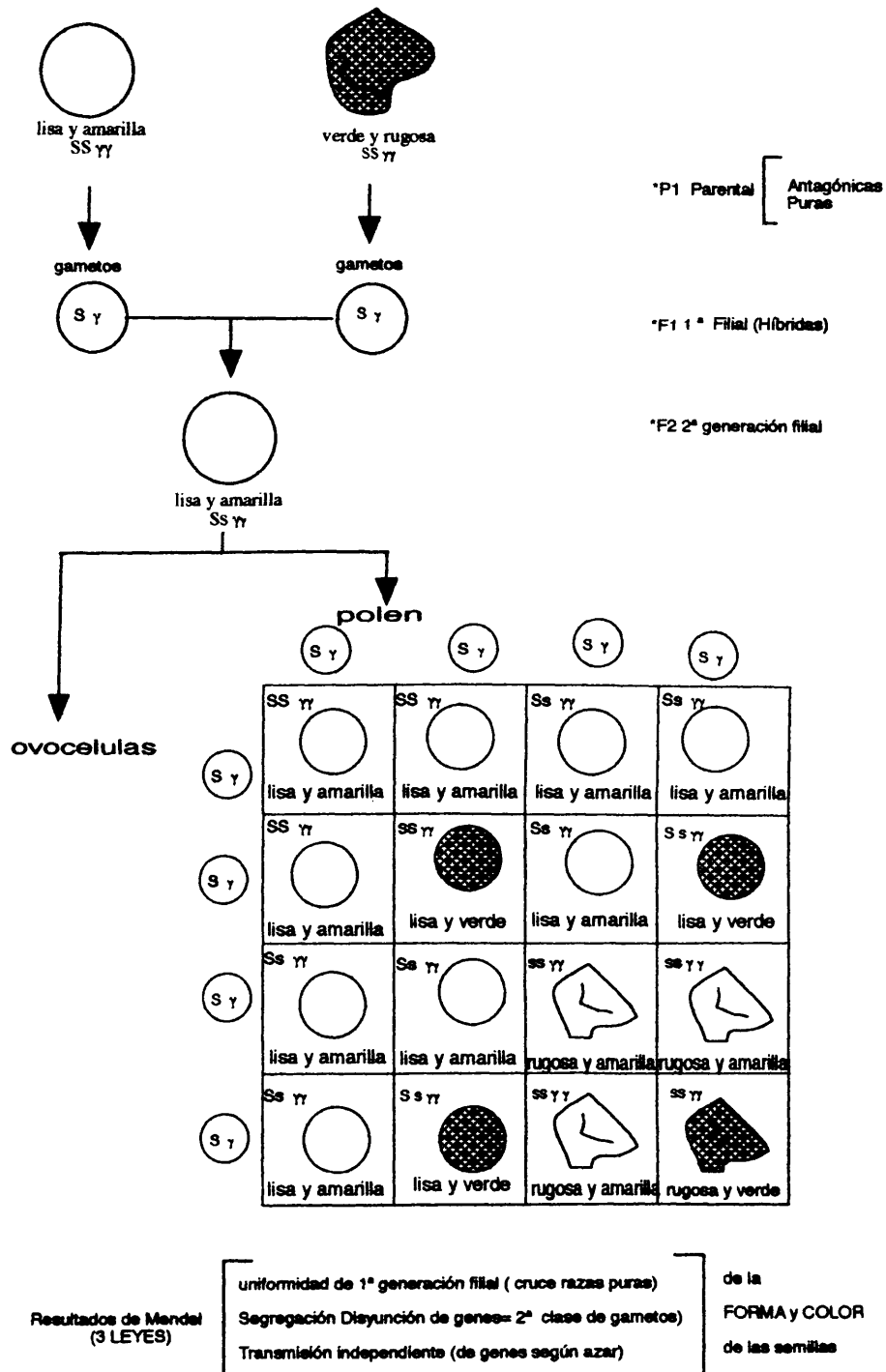
3º Color de la cubierta de las semillas: de 10 plantas con 35 fecundaciones, se obtuvieron 929 plantas híbridas (F₁), 705 con tegumento moreno y 224 blanco.

En resumen, los siete experimentos dieron una proporción entre dominantes y recesivos de 2,98 : 1 (prácticamente 3 : 1).

MENDEL percibe que el carácter dominante tiene dos significados distintos: unas veces es dominante constante (carácter parental) y otras veces es dominante híbrido (que dará lugar a descendientes y recesivos). En cada caso individual es imposible distinguirlos, mientras que no se estudie la descendencia.

Resultados gráficos de las 3 leyes de MENDEL

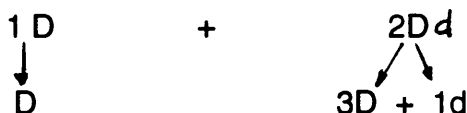
FIG 3-3



II SEGUNDA GENERACION A PARTIR DE LOS HIBRIDOS (F3)

Las formas que recibieron al caracter recesivo ya no variarían nunca: a todos sus descendientes les transmitirían solo el caracter recesivo.

De las formas dominantes en F2 : 2 partes producen descendientes con caracter dominante y recesivo (en proporción 3:1) mientras que una sola parte es dominante constante, cuyos descendientes seran solamente dominantes:



MENDEL pormenoriza el estudio de los dominantes en F2 , que dieron los siguientes resultados:

1) De 565 semillas redondas (D) en F2 , 193 fueron redondas (lisas), y 372 produjeron semillas redondas (lisas y rugosas) en una proporción 3:1.

Por lo tanto la proporción entre híbridos y constantes, entre esas 372 que fenotípicamente aparecían como dominantes, es de 1,93 : 1.

2) De 519 de albumen amarillo en F2 (Fenotípicamente "D"), 166 eran productoras exclusivas de amarillas (Dconstantes), mientras que 353 produjeron amarillas y verdes en una proporción de 3 : 1. Por lo tanto la proporción de híbridos con respecto a las formas puras dominantes era de 2,13 : 1.

A partir del tercer experimento al séptimo, solo empleó 100 plantas, repitiendo el experimento 5º (color de las vainas) que en principio le dio 4 verdes (dominantes constantes) y 60 verdes y amarillas (híbridas). Al repetirlo otro año, dio 35 y 65.

En resumen: la proporción entre los descendientes de los fenotípicos dominantes del F2 , dominantes puros e híbridos, es 2 : 1. Por lo tanto la proporción 3 : 1 de la F2 es en realidad:

$$\begin{array}{c}
 1 : 2 : 1 \\
 3
 \end{array}$$

Es decir el 50 % híbridos y un 25% dominantes puros y 25% de recesivos. Los descendientes de los híbridos en las sucesivas generaciones será igual a 50% híbridos dominantes, 25% Dominantes puros y 25% recesivos.

A continuación pasó MENDEL a la parte más difícil y laboriosa de su trabajo: el cruzar plantas que diferían en varios pares de caracteres. Pero ya había observado que en el cruce de este tipo de plantas, el híbrido resultante se parecía más a la planta que tenga más rasgos dominantes: por ejemplo si la planta usada como semilla (ovocel) es corta, de flores terminales y de vainas lisas, mientras que la usada como polen es larga, con flores rojop-violeta axiales y de vainas constreñidas (rugosas), los híbridos de F1 solo se parecieran a la planta semilla en sus vainas mientras que en todos los demás rasgos, seran como la del polen

Experimento nº 1

AB = planta semilla

A= lisa (redonda)

B = amarilla (albumen)

ab = planta polen

a = rugosa

b = verde

F1 = A B

F2 = las semillas son de 4 clases (a veces juntas en la misma vaina)

de 15 plantas F2	315 AB (redondas amarillas)	=9
	101 aB (rugosas amarilla)	=3
	108 Ab (redonda verde)	=3
	32 ab (rugosas verdes)	=1

Todas las semillas se sembraron al siguiente año, pero algunas no fructificaron. Las fértiles resultaron:

de 301 AB	38 AB	de 96 aB	28 aB	de 102 Ab	45 Ab
	65 ABb				
	60 AaB		68 aBb		67 Aab
	138 AaBb				

Fialmente de 30 ab sólo 30 ab

MENDEL ordenó sus datos para hacerlos más comprensibles:

(33) (1) = 33	38 AB	son constantes y no variaran	
	35 Ab		
	28 aB		
	30 ab		
(66) (2) = 65	65 ABb	Constantes para un caracter e híbridos para otro Solo variara en el caracter híbrido	
	68 aBb		
	60 AaB		
	67 Aab		

(132) (4) = 138 138 AaBb : son híbridas para ambos caracteres.

La serie consta de 9 términos:

- * 4 de ellos presentan una vez cada rasgo y son constantes.
- * 4 tienen dos rasgos opuestos 2 veces (cada uno) y cada término es constante para un caracter e híbrido para el otro.
- * 1 término aparece 4 veces y es híbrido para los 2 caracteres.

MENDEL dedujo correctamente que la serie resultaba de combinar término a término:
(A + 2Aa + a) por (B + 2Bb + B) = AB+Ab+aB+ ab+2ABb+2aBb+2AaB+AaB+4AaBb

GENERACIONES DE HIBRIDOS SUBSIGUIENTES

MENDEL siguió la descendencia de los experimentos 1º y 2º durante 6 generaciones. Las de 3º y 7º durante 5 generaciones y los experimentos 4, 5 y 6, durante 4 generaciones.

MENDEL llama "A" al rasgo dominante y "a" al recesivo, y encuentra en todos los casos el siguiente desarrollo de los híbridos:

$$A + 2 Aa + a$$

Debido a su gran habilidad con las matemáticas, MENDEL, muy pronto se percató que el número de plantas híbridas iría descendiendo de generación en generación, si las comparamos con el progresivo crecimiento de las formas constantes (DD ydd (orr)). pero sin que lleguen a desaparecer.

Hay que considerar que solo la mitad de la descendencia de los híbridos es híbrida, mientras que la otra mitad ira a engrosar el número de formas constantes.

Supongamos, para hacer las cosas sencillas, que en cada generación, de cada planta se originan solamente 4 descendientes (4 semillas en cada planta):

<u>Generación</u>	<u>A</u>	<u>Aa</u>	<u>a</u>	<u>En términos de razones</u>		
1ª	1	2	1	1	2	1
2ª	6	4	6	3	2	3
3ª	28	8	28	7	2	7
4ª	120	16	120	15	2	15

Esto quiere decir que para saber el número de formas constantes, basta elevar 2 a la potencia indicada por el número de generaciones y se resta 1.

Así, por ejemplo, en la 10ª generación el número de formas constantes (A y a) será $2^{10} - 1 = 1.023$.

Por lo tanto de cada 2.084 plantas, habrá 1.023 A, otras 1.023 A, otras 1023 a y solamente 2 plantas serán Aa.

experimento número 2

ABC= semilla

A = redonda

B = amarilla

C= morena

abc= polen

a = rugosa

b = verde

c = blanca

Con toda razón dice MENDEL que es el experimento que requirió más tiempo y esfuerzo:

De un total de 24 plantas híbridas (F1) del cruce ABC x abc se obtuvieron 687 semillas, de las que al año siguiente fructificaron 639 plantas:

<u>Nº de plantas</u>	<u>Tipo</u>	<u>Nº de plantas</u>	<u>Tipo</u>	<u>Nº de plantas</u>	<u>Tipo</u>
8	ABC	22	ABCc	45	ABbCc
14	ABc	17	AbCc	36	aBbCc
9	AbC	25	aBCc	38	AaBCc
11	Abc	20	abCc	40	AabCc
8	aBC	15	ABbC	49	AaBbC
10	aBc	18	ABbc	48	AaBbc
10	abC	19	aBbC		
7	abc	24	aBbc		
		14	AaBC	78	AaBbCc
		18	AaBc		
		20	AabC		
		16	Aabc		

MENDEL ya estaba seguro de que las descendencias dependían de las series combinatorias, por lo que fue sencillo ver los 27 términos de que constaba la serie, de los que 8 eran constantes en todos los caracteres, mientras que 1 de los tres caracteres, se repite 10 veces por término medio.

Encontró que 12 términos eran constantes en 2 caracteres e híbridos en el tercero, apareciendo unas 19 veces cada uno por término medio. Que 6 términos (o tipos) eran constantes en un sólo carácter e híbridos en los otros 2, siendo su presentación media de unas 43 veces. Finalmente que hay una forma que ocurre 78 veces, y es híbrida en los 3 caracteres.

Las razones medias eran
Que se aproximan a:
O bien a:

10 : 19 : 43 : 78
10 : 20 : 40 : 80
1 : 2 : 4 : 8

Dedujo que el desarrollo de híbridos cuyos progenitores difieren en 3 caracteres tiene la expresión:

$$\begin{aligned}
 &ABC + ABc + Abc + aBC + aBc + abC + abc + \dots \\
 &\dots + 2 ABCc + 2 AbCc + 2 aBCc + 2 abCc + 2 ABbC + 2 ABbc \\
 &\quad + 2aBbC + 2aBbc + 2 AaBC + 2 AaBc + 2 AabC + 2 Aabc + \dots \\
 &\dots + 4 ABbCc + 4 aBbCc + 4 AaBCc + 4 AabCc + AaBbC + 4 AaBbc \\
 &\dots + 8 AaBbCc
 \end{aligned}$$

Todo ello resulta de la combinación de:

$$(A + 2 Aa + a) \times (B + 2 Bb + b) \cdot (C + 2 Cc + c)$$

que suministran todos los términos de la serie.

Como conclusión MENDEL escribe: "la progenie de híbridos en los cuales ha habido unión de varios caracteres esencialmente diferentes, representa los términos de una serie combinatoria en la que se han combinado las series para cada par de caracteres diferentes". Y de ello dedujo la Ley: "el comportamiento de cada par de caracteres diferentes en una sociación de híbridos, es independiente de todas las otras diferencias en las dos plantas parentales". esta es la LEY del surtido independiente de genes.

MENDEL dedujo claramente: si "n" designa el número de caracteres diferentes en las dos plantas parentales:

$3n$ = número de términos en la serie combinatoria.

$4n$ = número de individuos de la serie.

$2n$ = número de combinaciones constantes.

Así, si los términos parentales difieren en 4 caracteres, la serie contiene $3^4 = 256$ individuos; $2^4 = 16$ formas constantes.

Es decir, que entre la descendencia de 256 híbridos se dan 81 combinaciones distintas, pero 16 de ellas son constantes.

Los 7 caracteres diferenciales que eligió darían $2^7 = 128$ combinaciones constantes. todas las asociaciones entre los distintos caracteres, mostraron un comportamiento absolutamnete concordante.

A partir de este momento MENDEL ya ha conseguido las relaciones numéricas que buscaba al emprender el trabajo, para deducir ya para siempre que relaciones numéricas habría entre los descendientes de los híbridos, sea cual fuera la combinación de rasgos discordantes.

En este momento se enfrenta al mayor reto de su trabajo: penetrar en el misterio de la naturaleza para saber por qué ocurren las cosas así. hace falta descubrir como son y como se comportan las células sexuales:

LAS CELULAS REPRODUCTORAS DE LOS HIBRIDOS

Los resultados de las investigaciones previamente citadas sugirieron experimentos ulteriores que arrojaron luz sobre la composición de las semillas y polen de los híbridos. Un hecho importante es que el *Pisum* da lugar a formas constantes entre la progenie de los híbridos. Sabemos por experiencia que solo se forman progenes constantes cuando las células germinales (polen y ovocel) son semejantes, creando, entonces, individuos idénticos (raza pura). De ello deduzco que también en una planta híbrida actúan factores idénticos para poder producir formas constantes (razas puras). Ya que las formas diferentes se producen en una sola planta, y ,más aun en una sola flor, parece lógico concluir que se forman en los ovarios de los híbridos tantas clases de células germinales (vesículas germinales), y en las antenas tantas clases de células polínicas, suantas son las posibilidades de formas de combinación constante, y que esas células germinales y polínicas correspondan, en su estructura interior, a las formas individuales".

MENDEL razona que esta hipótesis explicaría todo si se pudiese suponer que las diferentes células germinales y polínicas en un híbrido se producen en iguales números por término medio.

Para confirmar esto, diseña magistralmente una serie de experimentos: cruzó dos plantas que diferían constantemente (DD y rr) en la forma de la semilla y en la coloración del albumen:

Ab= Planta semilla

A = forma redonda

B = Albumen amarillo

ab = planta polen

a = forma rugosa

b = albumen verde.

Se sembraron las semillas artificialmente fecundadas junto a plantas parentales, y se eligieron las más vigorosas para los cruces recíprocos:

Cruzamientos:

- 1) El híbrido con el polen de AB.
- 2) El híbrido con el polen de ab
- 3) AB con el polen del híbrido
- 4) ab con el polen del híbrido.

Para cada uno de estos experimentos fueron fecundadas todas las flores en 3 plantas:

Si la hipótesis era correcta, las células germinales y polínicas de las formas AB, ab, Ab y aB deberían aparecer híbridos así:

- 1) cel. germ. Ab, Ab, aB, y ab, con células polínicas AB.
- 2) cel. germ. Ab, Ab, aB, y ab, con células polínicas ab.
- 3) cel germ. AB con cel. polínicas AB, Ab, aB, ab.
- 4) cel germ. ab con cel. polínicas AB, Ab, aB, ab.

De ahí que cada uno de esos experimentos solo puede dar lugar a las formas siguientes:

- 1) AB , ABb, AaB, AaBb.
- 2) AaBb, AaB, aBb, ab.
- 3) AB, ABb, AaB, AaBb.
- 4) AaBb, Aab, aBb, ab.

Y si las células hembras y machos se forman en igual número, las cuatro combinaciones anotadas deben mantenerse en igual proporción mutua. A esto solo se opondría las dificultades de la germinación y pequeñas variaciones debidas al azar.

MENDEL aclara que el objetivo primario de los experimentos 1º y 2º fue comprobar la composición de las células germinales de los híbridos; mientras que los experimentos 3º y 4º iban encaminados a determinar la composición de las células polínicas.

Por todo ello los experimentos 1 y 3 serían idénticos entre si, y lo mismo ocurriría con el 2 y el 4.

Puede verse en el esquema que los experimentos 1 y 3, los caracteres dominantes de forma (A) y el color (B) se presentan en cada combinación, constantes en algunas y en otras asociaciones híbridamente con los caracteres recesivos a y b. Es por esa razón por lo que deben imprimirse sus características a todas las semillas (el fenotipo sera obligadamente = semillas todas redondas y amarillas)

La otra asociación, 2ª y 4ª, presenta 4 asociaciones: Una de ellas será híbrida en forma y color (AaBb) por lo que fenotípicamente las semillas seran todas redondas y amarillas. La segunda es híbrida en la forma (Aa) y constante en el caracter recesivo del color (b): los fenotipos seran redondas y verdes. La tercera asociación es constamnte en el caracter recesivo de la forma (aa) e híbrida en el color (Bb): fenotipo rugoso amarillo. La última es constante en ambos caracteres recesivos (ay b) por lo que las semillas apareceran verdes y rugosas (angulares).

Por lo tanto son de esperar 4 clases de semillas en cada experimento: amarillas redondas, verdes redondas, amarillas angulosas y verdes angulosas.

Esquemáticamente lo obtenido se expresa así:

EXPERIMENTOS	<u>SEMILLAS AMARILLAS</u>		<u>SEMILLAS VERDES</u>	
	redondas / angulares		redondas	angulares
1º	98	-	-	-
2º	31	27	26	27
3º	94	-	-	-
4º	24	22	25	27

Ya MENDEL acariciaba la confirmación de su genial hipótesis al acabar el anterior experimento, pero al año siguiente (es decir la siguiente generación), de las 98 semillas sembradas el año anterior (número 1º) fructificaron 90 plantas, y de las 90 plantas, y de las 94 plantas del experimento 3º nacieron 87 plantas que se repartieron así:

EXPERIMENTOS			RESULTADOS	
1º	3º			
20	25	Semillas amarillas y redondas	A	B
23	19	Semillas amarillas/verdes y redondas	A	Bb
25	22	Semillas amarillas y redondas o angulares	Aa	B
22	21	Semillas amarillas o verdes redondas o angulares	Aa	Bb

En los experimentos 2º y 4º las semillas amarillas redondas produjeron plantas con semillas redondas, así como amarillas y verdes (Aab). Las semillas amarillas angulares produjeron plantas con semillas angulares, amarillas o verdes (a Bb). Finalmente, de las semillas verdes angulares se criaron plantas que sólo producían semillas verdes y angulares (ab).

Experimento 2º nº de plantas	Experimento 4º nº de plantas	Experimento
31	24	AaBb
26	25	Aab
27	22	ABb
26	27	ab

Todos los experimentos comprobaron la hipótesis formulada, y lo hicieron casi con las mismas cifras.

En experimentos posteriores incluyó los caracteres de color de la flor y de la longitud del tallo, preparando el experimento para que en el tercer año cada carácter tenía que aparecer en la mitad de todas las plantas:

A= flores rojo púrpura.

B= Tallo largo

a= flores blancas

b= tallo corto.

La forma Ab fue fecundada por la ab, produciéndose el híbrido Aab.

La forma aB fue fecundada por la ab, dando el híbrido aBb.

MENDEL continuó la fecundación al segundo año, y el híbrido Aab fue utilizado como planta semilla, mientras que el híbrido aBb como planta polen:

Planta semilla Aab Planta polen aBb
(células germinales: Ab y ab) (cel. polen posibles aB y ab)

De la fecundación que correspondía las células germinales polínicas posibles, debían resultar 4 combinaciones:

AaBb + ABb + Aab + ab

De lo cual se sigue que, según el supuesto antes formulado, de todas las plantas, en el tercer año añade la experimentación, la mitad debería tener:

Flores rojo-Violeta	(Aa)	Términos	1 , 3
Flores blancas	(a)	Términos	2 , 4
Tallo largo	(Bb)	Términos	1 , 1
Tallo corto	(b)	Términos	3 , 4

Se obtuvieron 187 semillas, sobre 45 fecundaciones del segundo año, de las cuales se lograron 166 plantas que llegaron a florecer al tercer año, y que en términos individuales aparecieron con las siguientes cifras:

<u>Término</u>	<u>Color flor</u>	<u>Tallo</u>	<u>frecuencia</u>
1	rojo violeta	largo	47
2	blanco	largo	40
3	rojo violeta	corto	38
4	blanco	corto	41

Por lo tanto se hallaron estas variantes:

<u>Caracteres</u>	<u>Designación</u>	<u>Nº de plantas</u>
Flor rojo violeta	Aa	85
Flor blanca	a	81
Tallo largo	Bb	87
Tallo corto	b	79

En este experimento también se confirma la hipótesis.

Así mismo, MENDEL, experimento en menor escala con la forma de la vaina, color de la vaina, posición de la flor, los resultados también fueron conformes.

Así, la experimentación justifica también el supuesto que "los híbridos de los guisantes forman células germinales y polínicas que corresponden, en su composición, en números iguales, a todas las formas resultantes de la combinación de caracteres unidos por la fecundación".

Las diferencias de formas y su proporción, entre la progenies de los híbridos, tiene adecuada explicación en el principio que se acaba de deducir:

El caso más simple viene dado por la serie "para un solo par" de características diferentes. Esta serie viene representada en la expresión:

$$A + 2 Aa + a$$

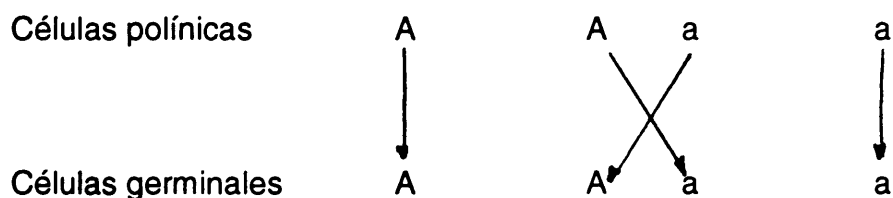
En dicha expresión A y a significan las formas que llevan caracteres diferentes constantes, mientras que Aa expresa la forma híbrida para ambos.

La serie contiene 4 individuos (A, Aa, Aa, a) en 3 términos diferentes. En su producción participan las células polínicas y germinales, tanto en la forma A como de la a, con un número de probabilidades iguales, por lo que cada forma se manifiesta 2 veces ya que se producen 4 individuos. Podemos esquematizar su producción en la fecundación así:

Células polínicas..... A + A + a + a

Células germinales.....A + A + a + a

El saber cual de las dos clases de polen se ha combinado con cada una de las células germinales en particular, es simplemente cuestión del Azr, pero según las leyes de la probabilidad, en una serie de experimentos muy grande, ocurrirá que al final la forma polínica "A" y la "a" se unirán con igual frecuencia con cada una de las formas de la célula germinal ("A" y "a"). Por lo tanto en la fertilización, una de las dos células polínicas "A" se encontrará con la germinal "A" con igual probabilidad de con la germinal "a" y a la inversa



El resultado de la fecundación se puede visualizar escribiendo de las designaciones de las células germinales y polínicas, asociadas en forma de fracciones, estando las células polínicas arriba y las células germinales abajo:

$$\frac{A}{A} + \frac{A}{A} + \frac{a}{a} + \frac{a}{a}$$

En los términos 1 y 4, las células polínicas y germinales son iguales, por lo que los productos de su asociación deben ser constantes: A en el primer caso y a en el segundo.

En los casos 2 y 3, se verifica la unión de los dos caracteres diferentes, por lo que las formas nacidas de tales fertilizaciones son absolutamente idénticas al híbrido de donde se derivan.

Así "tiene lugar la hibridación repetida". El sorprendente fenómeno que los híbridos son capaces de producir (además de los dos tipos parentales, una progenie de individuos que se parecen entre sí) se explica así:

$$\frac{A}{a} \quad y \quad \frac{a}{A}$$

Ambos dan la misma asociación "Aa", ya que, según se dijo, es indiferente a los efectos de la fecundación, cual de los dos caracteres pertenece a la célula polínica y cual a la célula germinal..Por eso:

$$\frac{A}{A} + \frac{A}{a} + \frac{a}{A} + \frac{a}{a} = A + 2 Aa + a$$

Esto representa la autofecundación de los híbridos, cuando dos caracteres diferentes se asocian entre ellos. Sin embargo, en flores y plantas individuales, la razón según la cual se forman los miembros de la serie, puede estar sometida a desviaciones no insignificantes. Aparte del hecho de poder ser consideradas iguales solo en promedio los números de veces que concurren en el ovario ambas clases de células germinales, es cosa puramente de suerte el que sea UNA u OTRA de las dos clases de polen, la que fertilice cada célula germinal individual. Por eso tratándose de valores aislados deben estar sometidos necesariamente a fluctuaciones, y aún son posibles casos extremos conforme decíamos al principio en los experimentos sobre la forma de la semilla y la coloración del albumen.

Las verdaderas proporciones solo se pueden dar calculando el promedio a partir de la suma del mayor número posible de valores separados. Tanto es más probable que los efectos puramente fortuitos sean eliminados, cuanto mayor sea el número de experimentos.

La serie indicada para híbridos, en que se asocian dos clases de caracteres diferentes, contiene 16 individuos que representan formas diferentes:

$$AB + Ab + aB + ab + 2ABb + 2aBb + 2AaB + 2Aab + 4AaBb$$

Entre los diferentes caracteres de las plantas parentales A, a y B, b, son posibles 4 combinaciones constantes; por eso, el híbrido produce las 4 correspondientes formas de células germinales y polínicas:

$$AB, Ab, aB \text{ y } ab$$

Cada una de estas células fertilizará o será fertilizada, 4 veces por término medio, ya que la serie contiene 16 individuos. La participación en la fertilización (fecundación) es:

CELULAS POLINICAS

AB + AB + AB + AB + Ab + Ab + Ab + Ab+ aB + aB + aB + aB + ab + ab + ab + ab

CELULAS GERMINALES

AB + AB + AB + AB+ Ab + Ab + Ab + Ab+ aB + aB + aB + aB+ ab + ab + ab + ab

En la fecundación cada célula polínica se une (en promedio) a cada forma de célula germinal con igual frecuencia.

AB+	AB+	AB+	AB+	Ab+	Ab+	Ab+	Ab+	aB+	aB+	aB+	aB+	ab+	ab+	ab	ab
AB	AB	AB	AB	Ab	Ab	Ab	Ab	aB	aB	aB	aB	ab	ab	ab	ab

O bien expresado de otro modo:

AB + ABb + AaBb + ABb + Ab + AaBb + Aab + Aab + AaBb + AB + aBb + AaBb + Aab + aBb + ab + AB + Ab + aB + ab + aB + ab + 2ABb + 2 aBb + 2 Aab + 4 AaBb.

La serie de híbridos en la cual se combinan tres clases de caracteres diferentes, se puede explicar de un modo similar. El híbrido produce 8 formas de células diferentes , germinales y polínicas:

ABC, ABc , Abc , Abc, aBC , aBc, abC y abc

Y, de nuevo, cada forma polínica se une una vez, como promedio, con cada una de las formas de células germinales distintas.

La Ley de combinación de caracteres diferentes, según la cual procede el desarrollo híbrido, tiene así su fundamento y explicación en la probada aseveración de que los híbridos producen células germinales y polínicas que corresponden, en números iguales, a todas las formas constantes resultantes de la combinación de caracteres unidos por la fecundación.

Aquí, termina realmente el trabajo de MENDEL con el Pisum y en el resto de su trabajo se dedica a experimentar con otra especie (Phaseolus) para comprobar sus resultados con el Pisum, y ve que, efectivamente, las mismas relaciones 3 : 1 aparecen en la primera generación de los híbridos.

Hubo la fortuna que el rasgo "Color de la flor" de la nueva planta, diese resultados distintos a los esperados (los llamo "resultados enigmáticos"): al cruzar una especie de las flores carmesí esperadas, sino un color rosa (intermedio). Entonces, su genio se puso en acción y predijo que el color "A" podía descomponerse en varios caracteres:

A1 + A2 + ...

que dan color rojo, los cuales al combinarse con "a" (blanco) para formar el híbrido (F1) daría lugar a las asociaciones:

$$A1 a + A2 a + \dots$$

Y que cada una de ellas sería independiente de las demás.

Por lo tanto la combinación de una serie de individuos daría una gama completa.

Los híbridos A1a y A2 darían:

$$A1 + 2A1a + a$$

$$A2 + 2A2a + a$$

Los términos de esta serie entran en 9 combinaciones distintas:

1 A1 A2	2 A1a A2	1 A2a
2 A1 A2a	4 A1a A2a	2 A2a a
1 A1a	2 A1a a	1 a a

Los números que preceden a las combinaciones indican cuantas de las coloraciones correspondientes pertenecen a la serie:

La suma de todos los individuos es 16.

Como recordaremos con el manejo anterior del sistema factorial, esos 16 individuos, agrupados en esos 9 genotipos, se originarían de la combinación de:

$$(A1 + 2A1a + a) \cdot (A2 + 2A2a + a)$$

MENDEL acaba su trabajo con un recordatorio encomiástico a varios botánicos que le habían precedido en el ensayo con híbridos, y finalmente hace unas consideraciones finales, empleando su sistema factorial, para dilucidar la discusión transcendental sobre si es posible la conversión de unas especies en otras, tanto espontaneamente, en la naturaleza, como por cruces artificiales:

Supóngase que queremos transformar la especie ABC en la especie abc. El híbrido resultante de la primera fecundación forma 8 clases de células germinales:

ABC, ABc, AbC, aBC, Abc, aBc, abC, abc

Al 2º año, estas se combinaron con la célula polínica abc, y daran la serie:

$$AaBbCc + AaBbcc + AabCc + aBbCc + Aabc + abCc + abc.$$

Siendo obvio que la "abc" sólo ocurre una vez en la serie de 8 términos, hay poca probabilidad que ello dejase de ocurrir en las plantas experimentales, aunque su número fuese relativamente pequeño, y la transformación sería completa en dos fecundaciones .

Si por el azar no se producía la transformación, deberían repetirse las transformaciones en una de las combinaciones más estrechamente relacionadas con la "abc" buscada, es decir:

Aabc, aBbc, y abCc

Cuanto menor sea el número de plantas experimentales y mayor el de rasgos diferenciales mayor tiempo durará el experimento, porque el número de células germinales distintas formadas en los híbridos, crece con el cuadrado del número de caracteres diferenciales.

Finalmente da un correctivo a las ideas de DARWIN sobre la posibilidad de transformación de unas especies en otras (no de unas variedades en otras, según los anteriores ejemplos):

"El éxito de los experimentos de transformación condujo a GATNER a disentir de aquellos científicos que niegan la estabilidad de las especies vegetales y suponen una evolución continua de las formas de las plantas. En la transformación completa de una especie en otra, él encontró pruebas inequívocas de que una especie tiene límites determinados, más allá de los cuales es imposible el cambiar...".

Entre las especies experimentales, fueron cultivadas formas tales como *Aquilegia atropurpurea* y *canadensis*, *Dianthus Caryophyllus*, *Chinensis* y *japonicus*, *Nicotiana rústica* y *paniculata*; y estas tampoco perdieron nada de su estabilidad después de cuatro o cinco repeticiones de asociación híbrida.

Resulta incompleta la referencia a la monografía de MENDEL, si no se hace mención al legendario trabajo de R. A. FISHER en 1936.

Fisher reconstruyó todos los pasos de MENDEL, desde el número de plantas cultivadas cada año, hasta las dificultades que tendría en cada momento, comentando el sentido de cada uno de los portentosos descubrimientos del agustino, preguntándose cómo la comunidad científica no captó la importancia de la monografía, a lo que da una respuesta muy verosímil. También analiza la imperfección con que fue analizado el trabajo a partir de 1900, diciendo que en cada tiempo solo se vió los perfiles extraordinarios que interesaban entonces. Para el genio de la biomatemática, Mendel alcanzó una comprensión perfecta del sistema factorial y lo aplicó inmejorablemente al análisis de la progenie de los híbridos: es decir que "n" factores deberían producir 3^n genotipos distintos de los cuales 2^n serían constantes en su descendencia pura. Por todo ello se adelantó científicamente en su generación a sus descubridores de 1900.

FISHER sometió a su prueba χ^2 los datos aportados por MENDEL, llegando a la sorprendente conclusión que los resultados eran "demasiado" buenos, pero no ocurrirían, como promedio, más que en 1 a 2.000 veces. Para eliminar ciertas dudas consultó a su amigo el Dr. RASMUSSEN (la mayor autoridad en Pisum en Inglaterra), sobre la metodología y recuento de MENDEL... todos los detalles del trabajo inclinan a FISHER a favor de que MENDEL todo lo que relata y de la forma en que lo cuenta, aunque el resultado (sobre todo las razones gaméticas) parecen sesgadas a favor de la expectativa ideal..."quizás algún frailecillo que le ayudaba, conocedor por el maestro de lo que se esperaba, "engordaba" inconscientemente a expensas de datos algo ambiguos..".

No obstante a partir de 1900, varios investigadores obtienen datos parciales tan buenos como los de MENDEL (BATESON, TSCHERMAK, LOCK etc.) y MENDEL en su primer experimento sobre la forma y color de las semillas, cuyas razones finales respectivas son de 2,96:1 y 3, 01:1, al dar pormenorizadamente los dos primeros plantas en cada serie y el resultado final, da dos plantas, en cada experimento, como casos extremos de variación. También en el segundo experimento al salir muy alejado de lo esperado el rasgo 5º (40:60) lo repite y, entonces, le sale 35:65, entrando en el cómputo solo el bueno. Pudo hacer lo mismo, sin decirlo en su escrito, otras veces más.

El método que siguió FISHER, no lo explica, pero bien pudo ser como el ejemplo que ponemos a continuación sobre la forma de los guisantes, tomando los 5 primeros datos de MENDEL.

PLANTAS		<u>FENOTIPO 3:1</u>			
		LISO	RUGOSO	GRAD. L.	Jl-Cuadrado
1ª	Obs	45	12		
	Esp.	42,75	14,25		
	Obs-Esp.	2,25	-2,25		
	(Id) ² /esp.	0,12	0,36	1	0,48
2ª	Obs.	27	8		
	Esp.	26,25	8,75		
	Obs-esp	0,75	-0,75		
	(id) ² /esp.	0,02	0,06	1	0,08
3ª	Obs.	24	7		
	Esp.	23,25	7,75		
	Obs-esp	0,75	-0,75		
	(id) ² /esp.	0,02	0,07	1	0,09
4ª	Obs.	19	10		
	Esp.	21,75	7,25		
	Obs-esp	-2,75	2,75		
	(id) ² /esp.	0,35	1,04	1	1,39
5ª	Obs.	32	11		
	Esp.	32,25	10,75		
	Obs-esp	-0,25	0,25		
	(id) ² /esp.	0,002	0,006	<u>1</u>	<u>0,01</u>
			TOTAL	5	2,05
Datos					
Acumul. Obs		147	48		
Esp.		146,25	48,75		
Obs-esp.		0,75	-0,75		
(id) ² /esp		0,0038	0,0115	1	0,015
FUENTE		Jl- cuadrado		grados lib.	Probabilidad
Total		2,05		5	
Datos acum.		0,02 (0,015)		1	0,95 a 0,90
Homogenidad		2,03		4	0,90 a 0,70

El resumen de los datos compilados por Fisher son los siguientes;

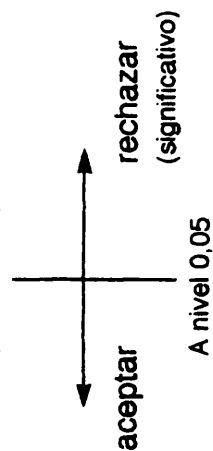
MEDIDA DE LA DESVIACION ESPERADA Y OBSERVADA

	Esperada	χ^2 observada
Experimento trifactorial	17	8,9374
Experimento bifactorial	8	2,8110
Razones gaméticas	15	3,6730
Ensayo 2:1 repetido	1	0,1250
TOTAL	41	15,5464

DESVIACIONES OBSERVADAS Y ESPERADAS EN TODOS LOS EXPERIMENTOS

	DESV. ESP	χ^2	Prob. de desv exc Observ.
Razones 3:1 { Carcter semilla Carcters. plantas	2 5 → 7	0,2779 1,8610 → 2,1389	0,95
Razones 2:1 { Caracteris semilla Característ. plantas	2 6 → 8	0,5983 4,5750 → 5,1733	0,74
Experimento Bifactorial	8	2,8110	0,94
Razones gaméticas	15	3,6710	0,9987
Experimento trifactorial	26	15,3224	0,95
TOTAL ilustraciones	64	29,1186	0,99987
variación de la plamnta	20	12,4870	0,90
TOTAL	84	41,6056	0,99993

PROBABILIDAD										
GRADOS Libertad	0,95	0,90	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
1	0,004	0,016	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83
2	0,10	0,21	0,71	1,39	2,41	3,22	4,61	5,99	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,42	2,37	3,67	4,64	6,25	7,82	11,35	16,27
4	0,71	1,06	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47
5	1,15	1,61	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52
6	1,64	2,20	3,83	5,35	7,23	8,56	10,65	12,59	16,81	22,46
7	2,17	2,83	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,007	18,48	24,32
8	2,73	3,49	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,13
9	3,33	4,17	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88
10	3,93	4,87	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59
11	4,58	5,58	8,15	10,34	12,90	14,63	17,28	19,68	24,73	31,26
12	5,23	6,30	9,03	11,34	14,01	15,81	18,55	21,03	26,22	32,91
13	5,89	7,04	9,93	12,34	15,12	16,99	19,81	22,36	27,69	34,52
14	6,57	7,94	10,82	13,34	16,22	18,15	21,06	23,69	29,14	36,12
15	7,26	8,55	11,72	14,34	17,32	19,31	22,31	25,00	30,58	37,70
20	10,85	12,44	16,27	19,34	22,78	25,04	28,41	31,41	37,57	45,32
25	14,61	16,47	20,87	24,34	28,17	30,68	34,38	37,65	44,31	52,62
30	18,49	20,60	25,51	29,34	33,53	36,25	40,26	43,77	50,89	59,70



BIBLIOGRAFIA.....

1.- MENDEL G.

"Versuche über pflanzen-hybriden".
Verhandlungen des Naturforschenden Vereines in
Brün. 4:3-47 (1866)

2.- FISHER R. A.

"Has MENDEL'S work been
rediscovered"

Annals of Science 1: 115-137 (1936)

3.- VIRIES DE H

"Sur la Loi disjonction des hybrides".
Comptes Rendues de l'Académie des Sciences
130:845-847 (1900)

4.- VRIES DE H.

"Das Spaltungs-gesetz der Bastarde"
versión inglesa en "The origin of
genetics"

pp 107-117 Stern 1966.

5.-CORRENS C:

"G. MENDEL'S regel über Verhalten
der Nachkommenschaft der
Rassenbastarde".

Berichte der Deutschen botanischen
Gesellschaft. 18: 158-168 (1900)

6.-FOCKE W.O.

"Die Pflanzen Mischlinge"
569 pp. Borntraeger. Berlin 1881

ARTICULOS CRITICOS E HISTORICOS

11.- GASKING E. B.

"Why was Mendel's work ignored"
J. Histored of ideas 20:60-84 (1959)

12.-WEINSTEIN A.

"The recepción of Mendel's paper by
contemporaries"

Proc Tenth. Int. Congres FHist. of Science pp
997- 1.001 Ithaca N.Y. (1962).

13.-WEINSTEIN A.

"How unnow was Mendel's papers"
J. of Hist. of Biol 10:341-64 (1977)

14.- WILKIE J.S.

"Some reason for rediscovery and
appreciation of Mendel's work in the
first years of present century"
Br. J. Hist. Sc 1:5-17 (1962)

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA

DATOS BIOGRAFICOS

7.- ILTHIS H

"Gregor Johann Mendel"

Versión inglesa 1924 (allen and Unwin. London
(1924) ILTIS era profesor en Brno.

8.- KRIZENECKI J.

"Moravian Museum: Brno;
anthropological publications"
Academy of Sciences, Praga 1965.

9.- KRIZENECKI J.

"The past of the CG. MENDEL
memorial in Bron"

Folia mendeliana 9: 231-243 (1974)

10.- MATALOVA

"Published primary sources to
G.MENDEL's biography"

Folia mendeliana 16: 239-254 (1981)

CAPITULO III

KARLD LANDSTEINER:

PADRE DE LA

INMUNOHEMATOLOGÍA

Y DE LA INMUNOQUÍMICA



KARL LANDSTEINER (1868 - 1943)

Es la figura más sobresaliente de las ramas de la ciencia que le tocara fundar

Descubrió el sistema ABO en 1900 - 1901

Los grupos MN y P en 1927.

El sistema Rh en 1940.

Todos los sistemas descubiertos hasta su muerte, le tuvieron como protagonista principal.

Sentó las bases de la inmunología.

Como dijimos en el capítulo anterior, la presente centuria, se abrió con dos sucesos decisivos para el desarrollo de la ciencia en general y de la Biología en particular: el descubrimiento, tras 34 años de olvido, del trabajo de MENDEL, y el descubrimiento por K. Landsteiner de los grupos sanguíneos ABO.

Nació en Viena el 14 de Junio de 1868, donde hizo la reválida en 1885 e inició sus estudios universitarios, licenciándose en Medicina en 1891, comenzando enseguida su carrera profesional, primero en la Clínica Universitaria de Viena, después en la 1ª Clínica Quirúrgica Universitaria, desde donde pasó al Instituto de Higiene y finalmente al Instituto de Anatomía Patológica, donde trabajó con gran dedicación, practicando en los 10 años que permaneció en el Instituto, 3.639 autopsias (1).

LANDSTEINER en aquellos años no solo practicaba, con gran perfección, la anatomía patológica clásica, sino que fue discípulo de GRUBER, cuyo nombre está ligado al de Widal, por haber descrito ambos la especificidad de los anticuerpos en el diagnóstico de las enfermedades, diferenciando con ello, por ejemplo, las causadas por el bacilo Tífico de las producidas por shigellas. Por ello no resulta sorprendente que descubriera a la vez que BORDET, en 1898, la elevación de las heteroglutininas, y su propia formación, por la inyección de sangre de un animal a otro de distinta especie (ver cita 14 del capítulo 1). Por todo ello, no fue fruto del azar su transcendental descubrimiento de la aglutinación de unos hematíes por el suero de otras personas en su trabajo de 1900 (2). Algo más tarde, en su memorable trabajo (3) que sería el número 13 de los suyos, planificó el experimento, cruzando las hematíes suspendidos en la salina y los sueros de las seis personas que trabajaban en su laboratorio, descubriendo los grupos A, B y O (que él llamó C).

Los experimentos inmediatos los llevó a cabo con sangre de embarazadas, y obtuvo los mismos grupos sanguíneos que en el ensayo con las sangres de sus colaboradores y la suya propia. A diferencia del resto de los investigadores de aquel tiempo, no se dejó engañar por la formación de rouleaux (consecuencia de la rápida sedimentación de los eritrocitos provocada por el embarazo o la enfermedad).

En el trabajo preliminar de 1900, ya se indicaba en una nota a pie de página: El suero de los seres humanos es capaz de aglutinar no solo los eritrocitos de los animales, sino, frecuentemente, los eritrocitos de otras personas. Hay que llegar a diferenciar si este fenómeno es dependiente de sustanciales diferencias personales, o si tendría lugar con la influencia de lateraciones, acaso producidas por las bacterias. Yo de hecho he hallado esto especialmente manifiesto en la sangre procedente de enfermos graves. Dicho fenómeno podría estar en relación con el poder de disolución eritrocitario de los sueros en distintas enfermedades, descrito por MARAGLIANO (IX Kongr. F. Inn. med. 1892).

En el siguiente trabajo de 1901, se describe perfectamente la determinación de los tres grupos sanguíneos humanos (A, B y O). En la tabla I del mismo trabajose confirma la teoría de Paul EHRLICH del "Horror autotóxico":

1-Ni los eritrocitarios de Landsteiner ni los de los demás colaboradores son aglutinados por sus propios sueros.

2-Hay eritrocitarios que no son aglutinados por ninguno de los otros sueros normales (en el trabajo le llamo "C", pero luego se le denominó "O").

3-El Dr. Sturli y el Dr. Erdheim pueden poseer el mismo grupo (A).

4- El Dr. Pleen y Zar son del mismo grupo (b).

TABLA 1

Resultado de las combinaciones con los elementos de la sangre de 6 personas sin patología aparente.

S u e r o o p l a s m a d e l:	ERITROCITOS DEL:					
	Dr. St.	Dr. Pleen	Dr. Sturli	Dr Erdh	Zar	Land
Dr St.	--	+	+	+	+	--
Dr. Pleen	--	--	+	+	--	--
Dr Sturli	--	+	--	--	+	--
Dr Erdh	--	+	--	--	+	--
Zar	--	--	+	+	--	--
Lands.	--	+	+	+	+	--
(tipo)	C (o)	B	A	A	B	C (O)

Observó, que en vez de débil aglutinación que se esperaba (falsas aglutinaciones debidas al rouleaux), aparecían en algunas combinaciones, aglutinaciones más rápidas e intensas que las ya conocidas entre las sangres de especies distintas, mientras que en otras combinaciones no ocurría ningún tipo de aglutinación. El explicó esto postulando que en los glóbulos rojos había dos diferentes sustancias aglutinantes (a las que llamó A y B) mientras que en el suero existirían dos aglutininas correspondientes para esos aglutinógenos: la anti-A y la anti-B. Y dependiendo de que hubiera una, otra, ambas o ninguna de las sustancias aglutinógenas en los eritrocitos, se definían 3 grupos de sangre: A, B y C (O). El cuarto y más raro o infrecuente grupo (AB) fue descubierto por uno de sus discípulos STURLI trabajando, por indicación suya, con de CASTELLO (4).

En el año 1901 LANDSTEINER había tipado en total a 17 personas, y debido a que este grupo es el más raro (del 3 al 5%) las probabilidades que LANDSTEINER tuvo en verlo fueron de $(1-0,05)^{17}$ es decir 0,418 , o sea algo más del 50%.

Los grupos sanguíneos ABO quedaron ya establecidos en el año 1902, y LANDSTEINER los describió minuciosamente en su monografía de 1907 sobre aglutinación y hemólisis (5).

LANDSTEINER estableció sus célebres reglas que han resistido la prueba del tiempo: "aquellas y solo aquellas aglutininas, están siempre presentes en el suero, cuando falta en los hematíes el correspondiente aglutinógeno".

Desde sus primeras investigaciones, se percató de que existiría una individualidad en las sangres humanas comparable a la de las huellas dactilares. esta predicción está prácticamente confirmada con los polimorfismos del grupo, séricos, enzimáticos y de la HLA descubiertos, librándose de esta regla solo los gemelos monozigóticos.

Cuando en el año 1922 fue invitado por el instituto Rockefeller de Nueva York, reinició, hasta su muerte en 1943, el estudio de los grupos sanguíneos inmunizado conejos con hematíes humanos con la esperanza que los anticuerpos de conejo anti-humano (una vez desprovisto de las heteroaglutininas de especie) podrían diferenciar sutilmente algunas particularidades nuevas en los hematíes humanos. Siguiendo esta idea, ayudado por P.LEVINE, descubrió al cabo de 5 años (1927) los grupos MN y el aglutinógeno P (6-14) y (15-20).

En 1929, un estudiante del último curso de medicina, ALEXANDER WIENER, publicó su primer trabajo científico, precisamente sobre la herencia de los grupos ABO, bajo un punto de vista de análisis teórico-estadístico. La finalidad era dilucidar quien tenía razón, si los que opinaban que la herencia y genética de los grupos ABO se debía a dos pares de genes independientes (en distinto cromosoma) o sea A-a y B-b, o bien si como había demostrado BERNSTEIN (21) se debía a un solo locus con varios alelos (A-B-R). A.S. WIENER, terminaba su trabajo afirmaba que la aglutinación ya había sido descubierta por los chinos en el siglo XIII. Al leer el trabajo LANDSTEINER, quedó sorprendido y logró que aquel estudiante llegase a su presencia. Al preguntar el Padre de la inmunohematología al estudiante, que donde había encontrado las fuentes de su afirmación, le contestó que en un libro sobre folklore chino en la biblioteca médica de la Armada: allí se decía que para saber si un hombre es el padre de un niño, se hace verter gotas de sangre de ambos hacia el fondo de una vasija de agua, si las gotas quedan juntas es que están relacionadas (biológicamente) pero si se dispersan lejos unas de otras es que no hay parentesco.

LANDSTEINER propuso al estudiante hacer un trabajo parecido sobre el sistema MN descubierto por él mismo dos años antes, y para ello proporcionó a WIENER sus propios antisueros, confirmando con ellos la teoría de la herencia de los MN apuntada por LANDSTEINER y LEVINE. Desde entonces hasta la muerte

del maestro en 1943, la estrecha relación no se interrumpió jamás, y todos los viernes por la tarde acudía el joven WIENER al apartamento del maestro para darle cuenta de los trabajos de la semana y programar nuevas investigaciones. Fruto de esta estrecha colaboración fue el descubrimiento del factor Rh, en investigaciones comenzadas en 1937 y publicadas en 1940 (22-26), que fundamentalmente consistieron en inyectar hematíes de macacus rhesus a conejillos de indias y con ese antisuero hacer pruebas con distintas personas (aglutinación o no de los hematíes humanos).

Al recibir el Premio Nobel en Estocolmo en 1930, explicó que había escogido siempre los métodos más sencillos para sus investigaciones, pronunciando las siguientes palabras:

“El descubrimiento de la especificidad bioquímica de las especies biológicas inspiró la pregunta que constituye la base de las investigaciones sobre lo que versa este discurso, cuya formulación es si la diferenciación específica traspasa los límites del taxos de especie, así como si también entre los individuos pertenecientes a una misma especie existen diferencias similares, aunque presumiblemente de menor rango. Dado que no constaba observación alguna que apuntase en tal sentido, elegí el diseño experimental más sencillo entre las posibles hipótesis de trabajo, y aquel material que prometía una aplicación provechosa. De este modo el plan de investigación consistió en permitir interactuar eritrocitos de distintos sujetos humanos con suero sanguíneo”.

Los resultados fueron sólo en parte los esperados. En muchos ensayos, precisamente en los que los hematíes se mezclaron con su propio suero, no se presentaban cambios. Sin embargo, con frecuencia, parecía un fenómeno descrito como aglutinación, causando el suero un agrupamiento de los eritrocitos de otro individuo.

La característica novedosa fue que la aglutinación, cuando ocurría, era tan intensa como en las bien conocidas reacciones de aglutinación en las cuáles se ponen en contacto células y suero de animales distintos, mientras que en otros casos parecía no haber distinción entre la sangre de individuos diferentes. En este punto todavía se consideraba que el hecho observado no representaba las diferencias individuales buscadas y que la reacción, a pesar de obtenerse con donantes sanos, podría ser debida a un historial clínico con enfermedades pasadas. Pero pronto llegó a ser evidente que las aglutinaciones seguían una Ley constante para la sangre de todo ser humano, y que las propiedades encontradas eran tan características para simples individuos como los patrones serológicos discriminadores de especies de seres vivos. Existen principalmente cuatro clases distintas de sangre humana, formando los denominados grupos sanguíneos. El número de grupos depende de la presencia en los glóbulos rojos de sustancias (isoaglutinógenos) que poseen dos estructuras desiguales, pudiendo ambas o una de ellas estar presente o ausentes en los eritrocitos de una persona dada.

Esto solamente pudiera ser insuficiente para explicar las diferencias de reactividad; los compuestos activos del suero, isoaglutininas, así mismo deben hallarse distribuidos de manera definida. Ciertamente esto es así, cada suero contiene aquellas aglutininas que actúan sobre los aglutinógenos que no poseen

sus propias células, hecho este muy importante, la causa del cual no ha sido todavía definitivamente establecida. De estas observaciones se desprenden relaciones concretas mostradas en la tabla I, entre los varios grupos de sangre, que simplifican la labor de su determinación. Se designan los grupos sanguíneos atendiendo a los aglutinógenos de sus células (en la tabla el signo= indica aglutinación).

SCHIFF y ADELSBERGER habían comprobado (27) que la inyección de hematíes de cordero a conejos, desarrolla en estos aglutininas de especificidad anti-A para los hematíes humanos. LANDSTEINER y WIENER (22) comprobaron que si lo que se les inyecta a los conejos eran hematíes rhesus, se forman en el conejo anticuerpos anti-M humanos, y siguiendo con esta línea descubrieron que, sobre todo los conejillos de india, desarrollaban con este proceder un anticuerpo que aglutinaba la sangre de la mayoría (85%) de los caucásicos de N. Y., que fueron llamados Rh+, mientras que el restante 15%, que carecían del factor, se les clasificaba como Rh-.

En realidad el anticuerpo descubierto por ambos no era exacto al producido con voluntarios humanos Rh- inyectados con hematíes Rh+ , si bien en la práctica se comportaba exactamente igual y se podía usar para el tipaje. Los autores ingleses y LEVINE propusieron que se le designase "factor LW" en honor a ambos descubridores. Casi al mismo tiempo LEVINE (ver nota 26 cap. I) hizo una de las interpretaciones más lúcidas de un fenómeno de la naturaleza, descubriendo que la EHRN se debía al verdadero anticuerpo producido por las madres Rh- cuando engendraba un feto Rh+. Y prácticamente a la vez, WIENER (ver nota 25 cap. I) descubría en 1940, que la incompatibilidad Rh era la causa habitual de la hemólisis transfusional entre los transfundidos sin incompatibilidades ABO. Aunque hay controversias sobre la primacía del descubrimiento (ver nota 24 en cap. I) en realidad ya LANDSTEINER y WIENER habían observado en 1937 el fenómeno rhesus en los cobayas.

La demostración de la diferencia entre la aglutinina anti-Rh humana y la producida por la cobaya (LW), no se demostró hasta el año 1961, en que LEVINE encontró una paciente que resultó ser R₁r pero LW-.

LANDSTEINER fue la figura mas sobresaliente en la rama científica que fundó, hasta su muerte, demostrando siempre un interés preferente por la aplicación práctica de sus descubrimientos, pues al igual que al descubrir el ABO vió la seguridad que acarrearía para las transfusiones, al descubrir los MN intuyó su uso en investigación en paternidad, y ambas cosas cuando descubrió al Rh.

Su labor de investigación fue incesante, estudiando con MILLES y luego con WIENER los grupos sanguíneos en monos y chimpancés, llegando a la conclusión de "parecen concordar con la teoría que el hombre y los monos son descendientes de un fondo común antes que con la de que el hombre descendería de uno de los monos por evolución. (29, 30 y 31).

Además de sus profundos y dilatados trabajos llevados a cabo con LEVINE y con WIENER, son dignos de resaltar los llevados a cabo con WITT (15 y 32) con MATSON. (16), con JANES (17 y 18) así como con SIMMS (19), y con STRATTOM (20), unas veces descubriendo el anticuerpo anti-A1, otras estudiando las sangres de diversas razas y tribus humanas, otros trabajos en los que su afán era dilucidar lo intrincado de las sangres de los monos y sus relaciones con la humana, o incluso los antígenos de los espermatozoides, con LEVINE (33).

El 25 de junio de 1943 fallecía a los 75 años, de un infarto de miocardio que le sobrevino dos días antes mientras trabajaba activamente en su laboratorio.

Muy poco antes de su muerte había terminado la segunda edición de su clásico libro(34) "the specificity of serological reactions" donde se encuentran las bases de la serología y de la inmunoquímica, y del que, quizás, no se ha sacado todas las enseñanzas y predicciones que encierra.

KARL LANDSTEINER: Padre de la Inmunoquímica.

Si como vimos en el apartado anterior, le cupo a LANDSTEINER la gloria, no solo de descubrir los grupos sanguíneos ABO, sino de ser el descubridor de todos los grupos sanguíneos que se conocieron hasta su muerte (en 1901 el ABO, en 1927 los grupos MN y P y en 1940 el sistema Rh) en 1943, también en el campo de la Inmunoquímica fue el fundador de esta rama del saber y la figura mas descollante hasta su muerte. Por todo ello en 1926 recibió el premio de la Fundación HANS ARONSON, y el mismo año que le concedieron el premio Nobel por los grupos ABO (1930), recibió la medalla PAUL EHRLICH por sus trabajos en inmunoquímica. Cuando recibió el grado de "Doctor Honoris causa" por la Universidad de Chicago se le consideró la "mayor autoridad del mundo en los mecanismos de la inmunidad". Y en la mención de Harvard se decía "Fundó una escuela del pensamiento que ha penetrado en todos los inmunólogos del mundo".

LANDSTEINER siempre estuvo fascinado por el problema de las bases de la especificidad de las reacciones serológicas, las cuáles, por ejemplo, hacen posible la diferenciación, por un simple test de precipitación, de proteínas de distintos animales (vaca, caballo etc), un problema que había desafiado los mejores esfuerzos de los más eminentes químicos orgánicos de aquel tiempo. Como veremos con más detalle más adelante en una amplia y genial serie de experimentos llevados a cabo, primero con LAMP, y más tarde en el Instituto Rockefeller en colaboración con J. van der SCHEER, demostró que la especificidad de las reacciones serológicas esta basada en la estructura química de los llamados "combinantes" o grupos determinantes en el interior de las moléculas del antígeno. Produjo "ad hoc" antígenos artificiales introduciendo en proteínas unos grupos determinantes de estructura química conocida y sencilla, por medio de mecanismo, por el introducido, la diazotización.

Acuñó el término de *HAPTENO* para las sustancias carentes de antigenicidad, pero capaces de reaccionar específicamente, in vitro, con los inmunoseros (en 1921)

También introdujo el *test de inhibición* con compuestos químicos sencillos para testar la especificidad del antisuero producido en respuesta a sus antígenos conjugados (más tarde sus ideas sobre el test de la inhibición fueron aplicadas por WATKINS y MORGAN (1) para dilucidar la estructura de las sustancias de grupo sanguíneo ABO y Lewis.

LANDSTEINER hizo multitud de contribuciones fundamentales en otras ramas de la inmunología y medicina, así, por ejemplo, demostró que los extractos alcohólicos de los tejidos normales contiene un principio activo responsables de la reacción de Wasserman, y por lo tanto resultaba innecesario el uso del hígado de feto rico en espiroquetas. Estas observaciones de LANDSTEINER son la base para el empleo universal de los lípidos de corazón de buey en las reacciones diagnósticas de la sífilis. Así mismo introdujo el empleo del "campo oscuro" microscópico en la demostración de espiroquetas en las lesiones primarias sifilíticas.

Con DONATH (2) desarrolló el test in vitro para la hemoglobinuria paroxística, que ha sido la primera etapa en la dilucidación de la patogenía de las anemias autohemolíticas.

Con POPPER fué el primero en lograr transmitir la poliomiелitis al macacus rhesus y, así, iniciar el estudio experimental de dicha enfermedad, deduciendo que el agente de la enfermedad era un virus filtrable, por lo que su pionero trabajo, en manos de otros investigadores posteriores, llevaron al descubrimiento de la vacuna contra la polio, que logró erradicar la enfermedad.

Los últimos años de su vida fueron fructíferos en una aplicación práctica de la medicina (la medicina laboral) estudiando y aclarando el mecanismo de la dermatitis de contacto.

Escribió 350 artículos científicos, con un común denominador: la concisión, claridad, exactitud de los hallazgos y la importancia del tema a investigar. Sus observaciones se han confirmado hasta sus últimos detalles por los investigadores posteriores.

Dejó a un lado la inmuhepatología, por ahondar en el estudio químico de la especificidad de las reacciones serológicas, y con la colaboración con LAMP (3) demostró, entre otras cosas, que se pueden formar anticuerpos contra haptenos sintéticos que no se encuentran nunca en la naturaleza. Pocos años después al trabajar en el Instituto Rockefeller de Nueva York, reinició (ayudado por LEVINE y después por WIENER) el estudio de los grupo sanguíneos, con los resultados tan óptimos que antes dijimos.

LANDSTEINER sentó los fundamentos químicos de la inmunología y el tiempo ha demostrado que esos cimientos eran solidísimos. Se le ocurrió la genial idea de incorporar sustancias simples a las proteínas y someter el nuevo compuesto a observación mediante test de precipitación cruzada. Desde los experimentos primeros, los resultados fueron exactos, así, por ejemplo, en su libro clásico (4) se describe un ejemplo de estas precipitaciones cruzadas: inmunizó conejos contra suero humano, y al volumen de precipitado de tal antisuero contra el suero humano le adjudicó un valor porcentual del 100%. El mismo antisuero lo enfrentó contra suero de primates superiores e inferiores y registró cuidadosamente el volumen del precipitado en valores comparativos con el del suero humano, y los resultados fueron:

HOMBRE.....	100%
Orangutan.....	47%
Cinoph. mormon.....	30 %
Cercoppith. pet.....	30%
Ateles vellarosus.....	22 %

La exactitud de esos resultados se ha verificado múltiples veces.

BIBLIOGRAFIA.....

- 1.- SPEISER P.**
"Karl Landsteiner, Entdecker der Blutgruppen"
Wiener Medizinischen Schule
- 2.- LANDSTEINER K.**
"Zur kenntnis der antifermentativen Lysischen und agglutinierenden wirkungen des blutserum und lymphes"
Zentralbl. Bakt. 28:357 (1900)
- 3.-LANDSTEINER K.**
"Ueber agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes"
Wien. klin. Wch. 14: 1132-34 (1901).
- 4.-CASTELLO von DE und STURLI A.**
"über die isoagglutinine in serum gesunder und kranker Menschen"
Munch. med. wchenschr. 49:1090 (1902)
- 5.-LANDSTEINER K.**
"Spezifische bindung und antikörper. IV Hämagglutination und Hämolyse: in Handbuch biochemie des menschen und der Tiere"
Vol. 2 pag. 395 (1907)
- 6.- LANDSTEINER K. and LEVINE P..**
"On the cold agglutinins in human serum"
J. Immunol. 12: 441 (1926).
- 7.-LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
"A new agglutinable factor differentiating individual human blood"
Proc. Soc. exp. biol. N. Y. 24:600 (1927)
- 8.- LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
"Further observations on individual differences of human blood"
Idem 24: 941 (1927)
- 9.- LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
"On individual differences in human blood"
Ibid. 47: 757-775 (1928)
- 10.-LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
"on the inheritance of agglutinogens of the blood demonstrable by immune agglutinins"
Ibid 48: 751 (1928)
- 11.- LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
"On agglutinin reactions of human blood other than those defining the human blood groups"
J. Immunol 17: 731 (1929)
- 12.- LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
" Note on individual differences in human blood"
Proc. Soc. exp. and. med. 28: 309 (1930)
- 13.- LANDSTEINER K. and LEVINE P.**
"On the inheritance and racial distribution of agglutinable properties of human blood"
J. imm. 14: 87 (1930)
- 14.-LANDSTEINER K. and LEVINE P**
"The differentiation of a type of the blood by means of normal animal serum"
J. Imm. 20:179 (1931).
- 15.- LANDSTEINER K and WITT D.H.**
"Observations on human isoagglutinins"
Proc. soc. exp. biol. med. 21:389:392 (1924)
- 16.-LANDSTEINER K, WIENER AS and MATTSON G A**
"Distributions of the Rh factor in americans indians"
J. exp. med. 76:73 (1942)
- 17.-LANDSTEINER , LEVINE P and JANES ML**
"On the development of isoagglutinins following transfusion"
Proc. soc. exp. biol. med. 25:572 (1928)

**18.- LANDSTEINER K, LEVINE P and
JANES ML**

"Immunization of chimpanzees with
human blood"
J. IMM 23: 397 (1932)

19.-LANDSTEINER K and SIMMS S
"Productions of heterogenetic antibodies
with mixtures of the binding part of the
antigen and proteina"
J. Exp. med.38:127 (1923)

**20.- LANDSTEINER K. SSTRUTON W
R and CHASE M W**
"On agglutination reaction observed with
some human bloods, chiefly among
negroes"
J. IMM. (1934)

21.-BERSTEIN F
"zusammenfassende betrachtungen
über erbliche bltstrukturen des
Menschen"
Zschr. Indukt. Abstammvererb lehre
37:237 (1925)

22.-LANDSTEINER K and WIENER AS
"On the presence of M agglutinin in
the blood of monkeys"
J. IMM. 33:19 (1937)

**23.- LANDSTEINER K and WIENER
AS**
"An agglutinable factor of human blood
recognizable by immune sera for rhesus
blood"
Proc. soc. Exp. biol. med. 43:223 (1940)

**24.- LANDSTEINER K and WIENER
AS**
"Studies on an agglutinin (RH) of
human blood reacting with anti-rhesus
sera human agglutinins"
J. Exp. Med. 74:309 (1941)

**25.- LANDSTEINER K and WIENER
AS**
"Test for Rh factor with Guinea Pig
immune sera"
Proc. Soc. exp. biol N.Y. 51:313 (1942)

**26.- LANDSTEINER K and WIENER
AS**
"Heredity of variant of the Rh type"
Proc. Soc. exp. biol. med.53:167 (1943)

27.- SHIFF and ADELSBERGER L
" Ueber blutgruppenspezifische
antikörper und antigens"Ztschr.
Immunitätsforsch 40:335 (1924)

**28.-LEVINE P, CELLANO
M.J.WALLACE J. and SANGER R.**
"A human "D. LIKE" antibody"
Nature 198:596 (1963)

29.-LANDSTEINER K. and MILER CP
"Serologic studies on the blood of
primates II. The blood group in
anthropoids apes"
J. Exp. med. 42:853 (1925)

30.- LANDSTEINER K. and MILER CP
"Serologic studies on the blood of
primates III. Distribution of
serological factors related to human
isoagglutinogens in the blood of the
lower monkeys"
J.exp. med. 42:863 (1925)

31.-LANDSTEINER K. and MILER CP
"Serological studies on the blood
primates I. The differentiation of human
and anthropoid blood"
J. Exp. med. 42:841 (1925)

32.- LANDSTEINER K. and WITT D.H.
"Observation on human blood groups.
Irregular reactions. Isoagglutinins in
sera of groups IV (AB). The factor A1"
J. IMM. 11:221 (1926)

33.- LANDSTEINER K. and LEVINE P
"On Group specific substances in
human spermatozoa"
J. Immunol 12:415-418 (1926)

34.-LANDSTEINER K.
"The specificity of serological reactions"
2^a ed. 1943. Reprinted Hafner Publish co NY
1962.

CAPITULO IV

FENOTIPADO DE MANCHAS SANGUÍNEAS Y BIOLÓGICAS

Desde el punto de vista médico-legal, clásicamente el empleo de los grupos sanguíneos tiene dos grandes vertientes:

- 1) La investigación de la Paternidad
- 2) El tipaje de manchas de sangre y secreciones biológicas en casos criminales.

En realidad en el trabajo fundamental de LANDSTEINER están las bases para la determinación del grupo sanguíneo de las manchas, resaltando las aglutininas de una mancha de sangre seca sobre una tela, de una antigüedad de 14 días, pudieron ser disueltas y proporcionaron una aglutinación correcta". Al darse cuenta de este hallazgo escribió: "esta reacción es posible emplearla para el reconocimiento de manchas de sangre desconocida con fines forenses, a menos que las aglutininas desaparezcan rápidamente".

En 1903 LANDSTEINER y RICHTER (2) publicaron un completo trabajo dedicado a la actividad de las aglutininas en sangre seca, en cristal y sobre telas: usaron la sangre de seis personas y la "reconstrucción" de la actividad de las aglutininas a partir de las manchas, mostraba una concordancia perfecta con lo que mostraban los sueros originales de las seis sangres, aunque en algún caso la aglutinina había perdido actividad. Es decir, alguna mancha no dió la reacción que de ella se esperaba, pero ninguna mostró aglutinación distinta de la esperada. a causa de que según las leyes de LANDSTEINER nadie tiene aglutininas en su suero contra sus propias hematíes, la aglutinación de los hematíes de una persona por el extracto de una mancha, excluye a esa persona como fuente de la sangre de la mancha. por el contrario, el fallo de la aglutinación jamás debe interpretarse como que el sujeto analizado es el origen de la sangre de la mancha. La comparación de la sangre de un sospechoso con el extracto de la mancha se ha venido llamando test de LANDSTEINER y RICHTER. Debido al hecho que el suero de muchos animales contiene aglutininas heterólogas, capaces de aglutinar los hematíes humanos, es necesario llevar a cabo, previamente, la prueba de las aglutininas para especie, antes de dar validez al test de LANDSTEINER-RICHTER.

Un autor peruano, asentado en Lima, BIFFI (3), conocedor de los trabajos mencionados, publicó en 1903 un trabajo en el que se decía que un sospechoso podía ser excluido como origen de una mancha si sus glóbulos rojos eran aglutinados por el extracto de la mancha; hizo una "elucubración" al pensar que del mismo modo se podía extraer los glóbulos rojos de la mancha y ser testados contra el suero sanguíneo del sospechoso, y que las aglutininas del extracto mostrarían diferencias en la aglutinación con las células rojas de diferentes sujetos: si solo unos pocos individuos eran los sospechosos, las diferencias en la aglutinación proporcionarían una "individualización". Esta idea fue recogida años después por BAECHI (4).

En una comunicación al mundo médico-legal francés, en 1904, FLORENCE (5) decía en forma irónica: "ya no solo se podrá distinguir entre la sangre de una liebre de la de una persona, sino la de Pedro, Pablo o francisc@s". Como confesaba su discípulo GALLI-VALERIO (6), dos años después, FLORENCE aceptaba la reacción de LANDSTEINER-RICHTER. Sobre este tema hizo su tesis VERDIER (7).

BAECCHI en 1910 realizó largos trabajos de investigación sobre las aglutininas de las manchas, fijándose, sobre todo, en las heteroaglutininas de animales, que podían aglutinar a los hematíes humanos, propiedad que era la base del test de MARX y EHRNROOTH para el diagnóstico de origen; también hizo muchas pruebas sobre la resistencia de las aglutininas a la desecación, al calentamiento, a la putrefacción...

En esta línea de experimentación cabe destacar, sobre todos, a LATTES desde 1913 (8), y a nuestros compatriotas LECHA MARZO y PIGA (9) en 1914.

En línea con BAFFI, BAECCHI, pretendió discriminar sutiles diferencias en las aglutininas de los extractos, distinguiendo, por ejemplo, a personas del mismo grupo por la intensidad de los aglutinados; estos trabajos le ocuparon hasta 1920 (10, 11 y 12).

Es en el año 1913, cuando LEONE LATTES emprende sus famosos estudios sobre las isoaglutininas de las manchas y logar sistemáticamente una metódica segura y asequible, y sienta los principios básicos en que se fundan los resultados.

LATTES no cayó en la trampa de BIFFI y BAECCHI de creer en la individualización por medio del extracto, aunque reconoció que había diferencia en la potencia con que distintos extractos podían aglutinar los hematíes testigo, pero que esto eran diferencias cuantitativas y no podían usarse en Medicina Legal. Puso énfasis en señalar que las sangres del grupo AB, al no tener aglutininas, no podían (sus manchas) aglutinar los hematíes testigos A ni B, y que tal reacción negativa era indistinguible del caso, frecuente, en que las aglutininas, frágiles, habían ya desaparecido, por lo que un resultado negativo no podía ser correctamente interpretado. Su técnica se conoce con el nombre de "LATTES crust test" y se usa, casi sin modificaciones, en todo el mundo. En 1915 publicó (13) extensos artículos en italiano y francés (14,15 y 16) sobre su técnica y resultados. Puntualizó que si el extracto se diluía mucho la reacción era falsamente negativa, pero si se concentraba mucho daba lugar a falsos positivos (fenómenos rouleaux), y como podían ser distinguidos de la aglutinación verdadera. En uno de los trabajos mencionados del año 1916 logró calmar los celos patológicos de un marido que acusaba a su esposa de infidelidad. El segundo caso práctico, también lo llevó a cabo en el mismo año, fue un homicidio, y el problema era decidir si la mancha que llevaba el sospechoso en su ropa era de su propia sangre o pertenecía a la víctima: el sospechoso era del grupo O y la víctima A, mientras que la mancha era del grupo O. Este es el primer caso criminal publicado en el mundo. El mismo año fue publicando numerosos refinamientos técnicos, entre ellos es de resaltar la metódica de diluir un poco los grupos sospechosos, si se disgregaban eran rouleaux y si persistían eran aglutinados verdaderos.

TEST DE LATTES

Desde la descripción original del autor, ha habido numerosas modificaciones hasta nuestros días. En nuestras manos, si las costras son relativamente recientes, es un test excelente: fácil, seguro, rápido y dinámico, no sometido a las manipulaciones o etapas complicadas del resto de los test, por lo que debe considerarse el de elección. La costra debe ser muy pequeña, para que no levante el cubre-objetos; la dilución de hematíes debe ser muy débil, al 0,5% o más baja aún. Tiene la pega que ante un resultado negativo dudamos si la mancha es del grupo AB (el más infrecuente) o de si las aglutininas se han destruido.

La cantidad de costra necesaria para un resultado seguro, es mucho menor que la indicada en la literatura, como más adelante comentaremos.

Cuando tratamos con manchas en las que no hay costras, se puede recurrir a la fabricación artificial de una costra a partir de la evaporación de unas gotitas del extracto. Rinde mejores resultados hacer una extracción de la mancha, no con suero fisiológico sino con los hematíes test diluidos al 1:200, los cuáles compiten con la propiedad de ciertas telas o substratos en absorber aglutininas; al cabo de unas horas de permanecer en "extracción", se aspira una gotita del líquido, y se busca la eventual aglutinación. Un escollo en este, tan sencillo, proceder, es la tendencia a la producción de hemólisis por los aprestos y restos de detergentes en las telas. La "protección" de los hematíes por albumina en salina, no es un remedio seguro.

LATTES y CANUTO (17) en 1926, impregnaban las manchas con una mínima porción de agua, y ese extracto lo secaban en un porta, gotita tras gotita, para fabricar la costra. Ya en 1932 LATTES (18) reconocía que este procedimiento requería bastante mancha, y, en él, se perdían muchas aglutininas. En 1927 MULLER había modificado la técnica haciendo la concentración y secado por evaporación al vacío (técnica del enriquecimiento de las aglutininas): según afirmaba, se lograba tipar correctamente el 70% de las manchas, si la evaporación era suave durante 24 horas. BRUNER (19), también en 1927, puntualizó la técnica: las soluciones coloidales, la albúmina, la goma arábiga etc. evitaban la formación de rouleaux...así comunicó el tipamiento correcto de una mancha de 14 meses. Por el contrario, HOLZER (20), siguiendo esta metodología rigurosamente, manifestó que era incapaz de obtener resultados confiables. El mismo LATTES, en el trabajo de 1932, reconocía que la metodología del "enriquecimiento por secado" era insegura.

GETTLER y KRAMER (21), en América, comunicaron que con el método de la costra obtenían buenos resultados, pero no con telas.

FARANOE (22) en 1942 aconsejaba usar la extracción de la mancha a 50°, sobre todo en las antiguas, de difícil solubilidad.

HARLEY (23) en 1943, proponía la extracción en suero fisiológico, cortando en pequeños trocitos medio centímetro cuadrado de mancha y hacer la extracción durante 24 horas en nevera: el extracto lo recogía en tubitos capilares que centrifugaba y el sobrenadante a los hematíes testigos, dejando que reaccionasen hasta 24 horas.

NICKOLLS (24) fue el primero en usar hematíes test tratados con tripsina. Se debe a MARCINKOWSKI la idea de extraer las aglutininas por medio de papel de cromatografía cuando la mancha estaba contaminada, quedando concentrada en el extremo del papel terminado en "V" (25). Este procedimiento, muy útil en la separación de los componentes sanguíneos para otros menesteres, no era apropiado para la concentración de las aglutininas como demostró FIORI (26) en 1963. Siguiendo la idea de NICKOLLS, DUCOS (27) propuso en 1960 usar hematíes papainizados, con lo que ciertamente aumenta la sensibilidad del test, ya que, este autor, tipo así manchas de tres años de antigüedad. FUNK y TOSTIAK (28) preconizaron el uso de albumina bovina al 11%, y la aglutinación podía leerse al cabo de 24 horas.

WIENER (29) introdujo la goma acacia para aumentar la sensibilidad: se hacía un extracto de la mancha salina y se repartía en tres tubos rotulados "A", "B" y "O", donde ponía previamente una gotita de la dilución de los respectivos hematíes; se mantenían media hora en nevera, se centrifugaban, se desechaba el sobrenadante y se añadía dos gotas de fisiológico helado y se leía. Si el resultado era dudoso o negativo, se añadía dos gotas de solución de goma acacia y después de 2 horas a la temperatura de la habitación se volvía a leer. Incluso una tercera lectura tras centrifugación, permitía, en ocasiones, detectar el grupo en manchas de 2 años de antigüedad.

Como dijimos al principio, la eficacia del test de LATTES es función de la concentración de aglutininas y de la concentración de los hematíes testigos: según los autores la concentración de hematíes variaba desde el 0,5% al 5%. LUND (30) demostró que la aglutinación era 8 veces más sensible con hematíes a 0,0625% que a 0,5% (y 32 veces más sensible aún si se baja la concentración a sólo 0,007%).

OUTTRIDGE y KIND (31 y 32) ponen énfasis en lo conveniente de usar concentraciones de hematíes muy diluidas, pero dejan actuar dichos hematíes directamente sobre la mancha, que tras 2 horas aspiraban y miraban al microscopio.

Cabe resaltar una técnica que nos ha dado muy buenos resultados y es debida a SCHULZ (33) en 1970, y empleada por muchos autores como KISSLING y NEUMANN (34): los hematíes test se sensibilizan previamente sometiéndoles a la acción de antisuero diluido 8 veces más que su título; la sensibilidad del test de LATTES se incrementó enormemente, en rapidez y potencia.

En la monografía citada de OUTTRIDGE (31) se puntualiza un hecho muy importante: el extracto debe hacerse con la suspensión de hematíes en vez de con suero fisiológico pues muchos substractos de la mancha absorben aglutininas, compitiendo ventajosamente con ellos los aglutinógenos de los hematíes testigos, pero no el simple suero fisiológico.

También en la monografía de MOUREAU (35) se destaca un punto de interés: las células testigos deben lavarse escrupulosamente. Como en tantos puntos de la inmunohematología forense, muchos años antes, otro autor (SCHIFF (36) cuarenta años antes) había demostrado que el suero sanguíneo contenía sustancias solubles de grupo sanguíneo, del mismo tipo o grupo que sus respectivos hematíes, y por lo tanto podían “competir” con las células testigo en la demostración de las aglutininas aminorando la sensibilidad del test.

También hay que tener presente la presencia la presencia de aglutininas (activas a temperatura ambiente y en medio salino) en la costra o en la mancha, de distinta naturaleza que las naturales ABO. A este tipo de aglutininas se les denomina “irregulares”. La existencia de aglutininas para los sistemas MNSs, Rh, Kell, Duffy y Kidd, que ocurren sin sensibilización previa conocida, es muy baja y la mayoría de ellas no sería activa en medio salino. GIBLETT (37) entre un gran número de donantes solo encontró un 1%. De todas formas no deben ser olvidadas, y debemos contrastar los resultados contra hematíes testigo del grupo “O” y Rh negativos. En un estudio de paternidad con grave enfermedad hemolítica (solo un hijo y 12 abortos de más o menos tiempo) y que mostró poseer un potentísimo anti-Le^a de tipo IgM, daba resultados, en el LATTES experimental preparados con su sangre, imposibles de valorar si no se estaba sobreaviso y se empleaba un panel de sangres “O” con todo tipo de combinaciones antigénicas para detectar anticuerpos.

Así como en la técnica para la detección de antígenos (HOLZER) es muy conveniente usar hematíes A₂, en la técnica de LATTES se impone el uso de hematíes A₁ para los que la aglutinina antiA muestra mucha más avidez. También aquí conviene no olvidar que el 25% de las sangres A₂B y el 1% de las A₂ poseen una aglutinina anti-A₁ que podría inducirnos al error de creer que se trataba de una sangre del grupo B.

No hay terreno de la serología forense donde haya más discrepancias que en el de la persistencia de la actividad de las aglutininas en manchas o sangre seca. Es cierto que la aglutinina, como gamaglobulina que es, se va deteriorando, y los mismos antisueros tipadores, con preservativo (azida sódica) y guardados en nevera, vemos que van perdiendo título, a veces demasiado deprisa. Cuanto más sucederá a la aglutinina de la mancha que proviene de una persona no sensibilizada y que por tanto su título es bajo y la avidez muy poco de destacar. He comprobado que cuando se practican experimentalmente sobre portas pequeñas manchitas de sangre y se guardan en lugar seco y sin luz, durante meses, dichas costras no valen para las prácticas con los alumnos. Ya hemos mencionado que muchos autores, con técnicas finas, logran detectarlas al cabo de dos y tres años. En circunstancias corrientes de peritación en casos criminales, no debemos confiar en encontrarlas más allá de 6 meses. Hay una norma práctica: si al cabo de media hora no notamos un halo rosa alrededor de la costra, difícilmente debemos pensar que han podido disolverse sus aglutininas, ya que la disolución corre paralela a la de la hemoglobina. Muchos autores han estudiado sistemáticamente esto, así LEVINE (37) se encaró con el problema en el año 1932 y dijo haber detectado las dos aglutininas en una mancha de 4 años de antigüedad, que resultó ser del grupo “O”. MATTA (38) coincide con nuestra experiencia: no hay que sobrepasar la antigüedad de 3 a 4 meses, aunque a veces (sangre de jóvenes y en buen soporte) se prolonga la persistencia el doble.

BALGARIES y CHRISTIAENS advierten sobre un hecho conocido por los que tenemos suficientes años de experiencia: las aglutininas de las manchas "O" persisten mejor que las de las manchas "B" (39). Estoy completamente de acuerdo con WIENER (40) cuando dice que al ser el título y, por consiguiente, la persistencia de la aglutinina anti-B menor que la de la anti-A en las manchas "O", algunas manchas del grupo "O" pueden haber perdido solamente la aglutinina anti-B y ser tipadas como del grupo B.

Ya anteriormente el propio WIENER (41 y 42) se había enfrentado con la confiabilidad de los distintos procedimientos para el tipaje de manchas de sangre e hizo una valoración demasiado crítica que, por excepción, no comparto en lo referente a la técnica de elución.

WIENER (43) al presentar abundante casuística en su laboratorio (Director del laboratorio de Serología del Medical Examiner de la ciudad de Nueva York), con numerosas equivocaciones de otros Peritos, indica la precaución con que deben manejarse las lectinas y los distintos antisueros, la interferencia del sudor en las ropas etc. etc. Al referirse en la cuestión número 97 al test de LATTES da unas precisiones con las que coincido totalmente, ya antes de conocer su libro: es el test ideal para tipar las manchas sobre materiales no absorbentes: pequeñas costras se colocan en tres portas, rotulados respectivamente con "A", "B" y "O", añadiéndoles una gotita de los respectivos hematies indicadores, y se cubre con un pequeño cubreobjetos.. se forma un halo rosa alrededor de la costra que empuja los hematies circundantes, producto de la disolución de la hemoglobina y con ella del suero seco de la costra y sus aglutininas, si estuvieran presentes. Además de su sencillez y falta de pasos manipulativos, el reactivo (aglutininas) lo proporciona la mancha y solo hemos de disponer de las hematies A, B y O. Por lo tanto esta prueba esta al alcance de cualquier laboratorio. Un detalle que siempre resalté es que es un test dinámico: si tenemos un poco de paciencia podemos ver en pocos minutos, como se van formando los aglutinados, de forma que con algo de experiencia no podemos ser confundidos por una pseudoaglutinación o por el rouleaux; basta que apretemos con una aguja histológica o con la punta de una pipeta de Pasteur, encima del porta (cubre) para que los falsos aglutinados se dispersen mientras que los verdaderos ruedan, sin disgregarse, con el aspecto característico de racimos o piñas. Lo dinámico del test es la "imantación" que sobre otros hematies va ejerciendo el grumito inicial de cuatro a cinco hematies, fuertemente atraídos unos a otros. Un método menos fiable, que empleo con fines didácticos para diferenciar las falsas de las verdaderas agrupaciones de hematies (las falsas, repito, nunca tienen la dinámica ni el aspecto de la piña), es colocar en el lado del cubre un papel de filtro mientras que en el opuesto, con una Pasteur, vamos echando muy suavemente suero fisiológico que es atraído hacia el lado del papel: los rouleaux son disueltos, las "piñas" persisten idénticas.

WIENER, en el caso de manchas de las que no puede sacar una costra, procede a preparar un extracto tan concentrado como le resulte posible (toda la noche en la nevera) en suero fisiológico taponado, centrifugado el extracto para dejarlo sin partículas de suspensión, y ese extracto se usa para enfrentarlo con los hematies testigo: A₁, A₂ B y O al 1% (demasiada concentración en nuestra opinión), colocando los tubos a casi un 0°C y posteriormente se centrifuga y luego se

aspira el líquido rojo oscuro y se reemplaza por una gotita de suero fisiológico y la lectura se hace tras agitar, muy suavemente, para despegar las células sedimentadas. Si la cantidad de aglutininas es tan pequeña que no basta para producir aglutinados, aunque sí para ligarse a los hematíes, entonces WIENER realza la fuerza añadiendo una gota de goma acacia al 10% y dejando reposar la mezcla 30 minutos. La goma acacia es un arma de dos filos: incrementa la sensibilidad a costa de producir tendencia a la aglutinación falsa, por lo que es esencial usar hematíes del grupo "O" y observar atentamente su comportamiento. Cuando las manchas son de larga data o proceden de cadáveres de ahogados, y aparece por ejemplo el siguiente patrón de aglutinación: aglutinación de las hematíes B pero no de los A ni de los O, podemos decir que la mancha no procede de un sujeto B ni AB, pero no que provenga del individuo del grupo A, ya que podía ser del grupo O y haber desaparecido las aglutininas anti-A, o bien que era demasiado débil para poder ser detectada.

Se sabe de muy antiguo que la humedad es deletérea para la conservación de las aglutininas, ya que mientras la sangre permanece húmeda es un excelente medio de cultivo para las bacterias. Las manchas que rápidamente se secan (gotitas pequeñas) son las que conservan las aglutininas activas durante largos periodos. He comprobado que si una vez seca se guardan al abrigo de la luz (dentro de un cajón) las aglutininas persisten más del doble del tiempo que las manchas gemelas dejadas a la luz del sol. Un calentamiento a 64° durante 10 días atenuó poco el poder de las aglutininas, en los experimentos de KAYSSI y MILLAR (44) cuando esos calentamientos solo duraban una hora cada día..., y tampoco la exposición a radiaciones ultravioletas durante una hora diaria disminuía la potencia de las aglutininas. Como era de esperar, subiendo la temperatura por encima del punto de coagulación de las proteínas, se degradan rápidamente las aglutininas; esto se consigue fácilmente con calentamiento a 100° durante 1 hora.

Ya insinuamos que en condiciones habituales y sin refinamientos técnicos, el test es "funcionante" si se produce el pequeño halo rosa alrededor. Hay un procedimiento para aumentar la solubilidad de la manchita y lograr que "salgan" las aglutininas residuales: calentamiento suave.

Ya FARANOE hace muchos años (45) usó este proceder, que a todos se nos ha ocurrido, sin tener noticias de él, por las similitudes que hay con los escollos que presentan el estudio de la data según la solubilidad de las manchas en agua destilada, suero fisiológico, clohídrico decinormal, sosa o potasa diluida etc., y como se incrementa la disolución por medio del calentamiento. Así FARAONE tenía éxito en manchas de un año.

HARLEY (46) puso a punto una variante consistente en largos periodos en la extracción y en la incubación. MERKELEY (47) con esta técnica, en manchas de cerca de dos años, logró éxito parcial y, como era de esperar, la aglutinina anti-A persistía mucho más que la anti-B (ver cita 39), bien porque es más lábil, o porque su título suele ser más bajo. WIENER (48) con su método de acacia tipó bien manchas experimentales A y O de una antigüedad de dos años (pero habían sido guardadas frías).

OUTTERIDGE en el trabajo citado (ref. 31) estudió meticulosamente la acción del calor y la humedad sobre la persistencia de las aglutininas en manchas experimentales sobre papel de filtro: como era de esperar la humedad era lo más pernicioso. Así, por ejemplo, en cámara húmeda a 50°, las aglutininas desaparecían al cabo de solo 15 días, mientras que duraban cuatro veces más si se guardaban secas, y muchísimo más si además de secas, se guardaban en frío (herméticamente cerradas), pudiéndose tipar correctamente al cabo de 9 meses. En las manchas del grupo "O" desaparecen pronto las aglutininas Anti-B, mientras que duran más las Anti-B del grupo A.

Resulta sorprendente como en la segunda década de este siglo, los hematólogos guardaban los sueros tipadores y los hematies control sin disponer de neveras, y manifestaban que le duraban en buenas condiciones durante bastante tiempo. SANFORD (49) mantenía que preparaba gotas de suero tipador en portas y lo dejaba secar, durándole en buenas condiciones durante dos meses a la temperatura de la habitación, mientras que otro eminente analista (KOLMER 50, 51 y 52) llevó a cabo experimentos y comprobó que el título de las aglutininas descendía, en suero seco, a los dos o cuatro días, y conservándolo en frío le duraba solo 15 días. del mismo parecer eran los autores KARSNER y KOECKERT (53) que manifestaban que en suero seco las aglutininas se deterioraban a las dos semanas y al mes habían perdido sus propiedades.

Solo los resultados positivos son los tenidos en cuenta en el test de LATTES.

DETECCION DE LOS AGLUTINOGENOS EN LA MANCHA (test de HOLZER)

La siguiente técnica, cronológicamente, fue la de investigar los aglutinógenos de la mancha y de ello inferir el grupo sanguíneo. naturalmente los hematies se han destruido y es ilusorio pretender que reaccionarían ante los antisueros como los hematies frescos. Por ello se ideó un procedimiento indirecto: los estromas de hematíes tendrían capacidad de absorber las aglutininas de los antisueros disponibles en el laboratorio, total o parcialmente, por lo que si ~~casamos~~ rigurosamente su título antes de la prueba, al medirlo después de ella, podremos saber si la mancha retuvo o no parte de las aglutininas y de esta manera indirecta, se sabe la especificidad grupoespecífica de la mancha. El fundamento es inverso al de LATTES, allí se conocían los hematíes y se desconocía la aglutinina, que la proporcionaba la mancha, mientras que en el método de absorción-inhibición, lo que se conocen son las aglutininas (y su título) y lo que se desconoce es el aglutinógeno.

Corrientemente se la conoce como técnica de la absorción-inhibición (a veces absorción-neutralización), pero en Alemania se la llama "Agglutininbindung" es decir: ligadura de aglutininas.

Ya LANDSTEINER había demostrado que los hematíes con un grupo de aglutinógeno, absorbían la correspondiente aglutinina del antisero que la contenía. Pero no hay aplicación medico-legal de este principio hasta 1921, en el SCHUTZE, en el Instituto Lister de Londres (54) lleva a cabo relevantes experimentos. Le había llegado un cuadro con motivos religiosos, en el que había sangre, que por el test de las precipitinas sabía que era humana, pero le interesaba la determinación de su grupo, si era posible. Parece ser que desconocía los esfuerzos de LATTES y su escuela, y llegó a la conclusión, por él mismo, que se podían detectar las aglutininas en la mancha a menos que fuese del grupo AB, siendo, en este caso, indistinguible de la presencia de aglutininas inactivas y, por esta razón, pensó que lo más deseable era obtener una técnica que se basase en la búsqueda de los aglutinógenos. En sus experimentos secó sangre en placas de Petri y en telas, y más tarde la reconstruía en suero salino. Añadía, entonces, suero del grupo "O" y tras adecuada incubación, lo enfrentaba contra hematíes "A" y "B" para ver cual de las dos aglutininas había sido consumida: una mancha del grupo "B" removió aglutininas anti-B del suero anti-AB, después de permanecer 41 días a la luz del sol; igualmente una mancha del grupo "A", de 5 meses de antigüedad, logró anular las aglutininas anti-A de otro suero de persona del grupo "O".

No obstante, LATTES en su cátedra de Mesina (55) y SIRACUSA (56) habían llevado a cabo estudios profundos sobre el mismo proceder. En el trabajo ya mencionado de OUTERIDGE (ref. 31) se refiere a que la absorción inhibición se publicó en Japón en el año 1926 por KWANSUKE SERA (57).

En el mismo año el eminente serólogo forense SCHIFF (58), ideó una técnica para la determinación de los aglutinógenos por medio de la absorción inhibición y, con gran perspicacia, recomendaba no usar el suero "O" a causa de la diferencia en el título de sus dos aglutininas, así como la necesidad de hacer un control con el substrato sin manchar para detectar la absorción inespecífica de aglutininas.

SIRACUSA (ref. 56) hizo cuantiosos experimentos sobre la absorción de las aglutininas desde el suero "O" por las manchas de sangre, tratadas por el calor y gran variedad de compuestos químicos: elegía un suero "O" que tuviese igual título en ambas aglutininas, y diluía el suero 3 veces (1/3) y lo incubaba con la mancha, y tras varias horas, centrifugaba y, sobre una alícuota del sobrenadante, estudiaba la aglutinación con hematíes Ay B. Así como había comprobado que las aglutininas eran muy frágiles y con la exposición de la mancha a 100° desaparecían, los aglutinógenos, mucho más resistentes, resistían esa temperatura y no perdían capacidad para combinarse con las respectivas aglutininas. También constató que los aglutinógenos resistían el CLH 1N, NaOH 0, 1N, vapores de amoníaco, solventes orgánicos etc. No obstante, el ácido acético y etanol inhiben la absorción de las aglutininas parcialmente, mientras que el MnO₄K al 2,4% los destruye.

POPOFF (59) introdujo en 1929 esta técnica en Rusia, y en el mismo año la hizo habitual en Japón HIGUCHI (60). Y, al igual que SCHIFF, recomendaba el uso del suero anti-A y anti-B por separado en vez de suero "O"; los títulos recomendados eran de 1:30 y tres horas de contacto. Así fue capaz de tipar correctamente sangres de 21 años de antigüedad.

En el año 1931, el decisivo para esta técnica: F.J. HOLZER, de Innsbruck, publica su metódica con la absorción-inhibición. En realidad es una adaptación del de LATTES y SIRACUSA (61) excepto en el detalle que HOLZER chequea el grado de inhibición sufrida por el suero, mediante su titulación tras el periodo de absorción. Empezó usando suero "O" con el título 1/64, que luego lo rebajaría a 1/16. La técnica consistía en incubar 24 horas en nevera, una pequeña cantidad de mancha contra el suero, y el sobrenadante era luego investigado sobre su título con hematies A y B en portas con pocillo, comparando el título actual con el anterior. Ensayó numerosos substratos para determinar su poder de adsorción de aglutininas, por lo que recomendó (como SCHIFF) el uso de controles blanco, con substrato sin manchar. De 387 test, fue capaz de hacer el diagnóstico correcto en 366 casos. Tenía la impresión que el aglutinógeno "A" era capaz, por lo común, de rebajar más el título de la aglutinina anti-A que lo que lograba el aglutinógeno "B" con la aglutinina anti-B. Así, por ejemplo, si se usaba un título de 1:16, bajaba el título del anti-A 3 o 4 tubos, mientras que el anti-B solo solía descender 2 o 3 tubos.

HOLZER encontraba preferible usar títulos más elevados (que 1:16) pues así las reducciones eran más marcadas. La realidad es que si empleamos antisueros de suficiente título, nos encontramos, muchas veces, que no se produce reducción del título; esto es lo que puede apreciarse en la figura número 1, comparando el HOLZER clásico con el HOLZER modificado, empleando un título muy alto de antisuero (1:256).

Testó numerosas sangres que manchaban piezas de convicción antiguas en su Instituto, pero cuyo grupo era desconocido. La combinación de los grupos encontrados en numerosas piezas se adaptaba muy bien al reparto de esos grupos entre la población.

Hay dos procedimientos principales de técnicas de absorción inhibición: la del todo o nada (en la cual hay que emplear un título de antisuero relativamente bajo para poder ser anulado por completo, pero que a la vez requiere suficiente mancha para lograrlo), y el método (de HOLZER propiamente) de disminución de título ha quedado tras la absorción. Este método requiere bastante tiempo, el empleo de numerosos tubos, de muchas pipetas, para ir haciendo las diluciones al doble...

Los autores que prefieren la primera técnica son: SIRACUSA, HIGUCHI, SCHIFF, WIENER (62) (que es el autor con más rigor, llegando a preconizar solamente 4 unidades de aglutinina, la cual es muy difícil de manejar si la técnica no es de una escrupulosidad total). También BOYD (63) y WITE (64) la prefieren.

Los autores que prefieren el segundo método son: THERKELSEN, BOYD en sus primeros trabajos antes de asociarse a SCHIFF (66), HARLEY (67), DAHR (68), TAN y WONG (69), FUNK y TOWSTIAK (70), si bien recomendado la adición de una gota de albúmina bovina al 11% en la última etapa tras la absorción y dejar con ello los tubos 5' a 10' en cámara húmeda antes de la lectura o titulación.

Para WIENER (ref. 43) es el método más fiable, y el de elección, si bien reconoce que se necesita grandes cantidades de mancha. En su trabajo de 1931, HOLZER recomendaba 10 mgrs de sangre seca, correspondiente a 1 gota de sangre, ó 0,05 ml) para cada décima (0,1 ml) de antisuero añadido. En la referencia. 65 el autor propone nada menos que 80 mgrs de sangre seca.

Ante esta poca sensibilidad varios autores proponen ciertas modificaciones para incrementarla y, así, poder llevar a cabo el análisis cuando la cantidad disponible de sangre es mucho menor. En este sentido, cabe destacar a PONSOLD (71), que usando capilares bastaban 1 mlgrs de sangre. Una modificación a esta técnica, por HAUSBRANDT (72), bajó la cantidad necesaria a solo 0,2 mlgrs. de sangre seca. TAN y WONG, haciendo la titulación en portas, pero en vez de usar las diluciones al doble empleando diluciones al 1'5, creen que basta con solo 0,5 miligramos. KISHINO (73) usando largo periodo de absorción, y con incubación a 37°, luego a t° de la habitación y luego en frío, afirma ser válida la técnica con solo 0,05 a 0,1 mlgrs. de sangre seca, y ser efectiva con sangre de hasta 2 años de antigüedad, tras un tratamiento durante 1-2 horas con tripsina al 0,3-0,5 % a 37°, que hace la técnica más factible.

Naturalmente que la cantidad de sangre que se requiere está en función del título de antisuero que empleemos: más material será necesario para inhibir un suero potente...

Hemos visto que en los primeros trabajos se empleaba suero del grupo "O", pero SCHIFF lo desaconsejó por el distinto título que ambas aglutininas podían exhibir (ref.58). Otra objeción al uso de este antisuero (anti-AB) es la existencia de reacciones cruzadas por las que una mancha del grupo "A" podría absorber cierta cantidad de antisuero (mejor dicho, aglutinina) anti-B, y viceversa. En lo referente al primer punto, SCHIFF, BOYD, DAHR y MOUREAU (74) preconizaron el uso por separado de las dos aglutininas (es decir antisuero A y antisuero anti-B). Esta objeción al uso de antisuero de las personas "O" podría eludirse si se preparasen titulaciones "ad hoc" para cada aglutinina, y aunque haría más tedioso el procedimiento no cabría oponer tal objeción.

El segundo argumento (las reacciones cruzadas) es mucho más serio, ya que el suero anti-AB no es una simple suma de anti-A y anti-B. La única pega es que no se podría usar un solo tubo y la cantidad de mancha sería mayor.

Yo no encuentro ningún inconveniente en mezclar ambas aglutininas en un solo tubo, con la mancha, aunque muchos autores objetan que los sueros sanguíneos de las personas secretoras pueden contener significativas cantidades de sustancias A ó B, como cualquier secreción corporal, reduciéndose el título de la aglutinina correspondiente por este motivo. Yo encuentro que la manera más fácil de solventar esto es empleando antisueros de alto título, muy diluidos, para que aún tengan suficientes aglutininas (unas 8 unidades) y por la dilución se han esquivado las sustancias grupoespecíficas propias de los secretores. SCHIFF y BOYD recomendaban el uso de antisueros inmunes, pero desgraciadamente son más difíciles de titular y de inhibir.

Cuando no se emplea Lectina anti-H, hay que hacer la interpretación de los resultados con precaución, ya que la falta de absorción de las aglutininas A y B es una indicación insuficiente del grupo "O". Así que además la dificultad del diagnóstico del grupo "O" nos encontramos con dificultades parecidas en los grupos "A" débiles, y no digamos del A₂B. En el caso de hacer, como propuga WIENER, una técnica de LATTES en paralelo, para la investigación de ambas aglutininas, el

problema se solventaría, pero, a veces, es impracticable hacer la técnica de la costrita. Con la Lectinina anti-H también desaparecen, teóricamente, estas dificultades. Al emplear un antisuero anti-A que contiene dos aglutininas (anti-A y anti-A₁) y enfrentarlo contra la mancha A₂, la anti-A es absorbida pero no la anti-A₁, mientras que si lo enfrentamos contra hematies A₁, exclusivamente, puede pasar inadvertida una mancha A₂.

SCHIFF y BOYD (ref. 63) decían que cuando diagnosticaban una mancha como del grupo "B", en realidad no podía excluir que ella fuera de verdad A₂B. del mismo modo, cuando no podían completar la investigación con el test de LATTES, si la mancha no absorbía ninguna de las dos aglutininas, a lo más que llegaban era a un diagnóstico de presunción de grupo "O", dejando la posibilidad que fuera un grupo A₂O aún más débil subgrupo de A. De igual parecer era WIENER (ref. 43).

Tan reciente como 1977, BENCIOLINI y CORTIVO (75) manifiestan que son incapaces por la absorción inhibición de tipar las sangres A₂B.

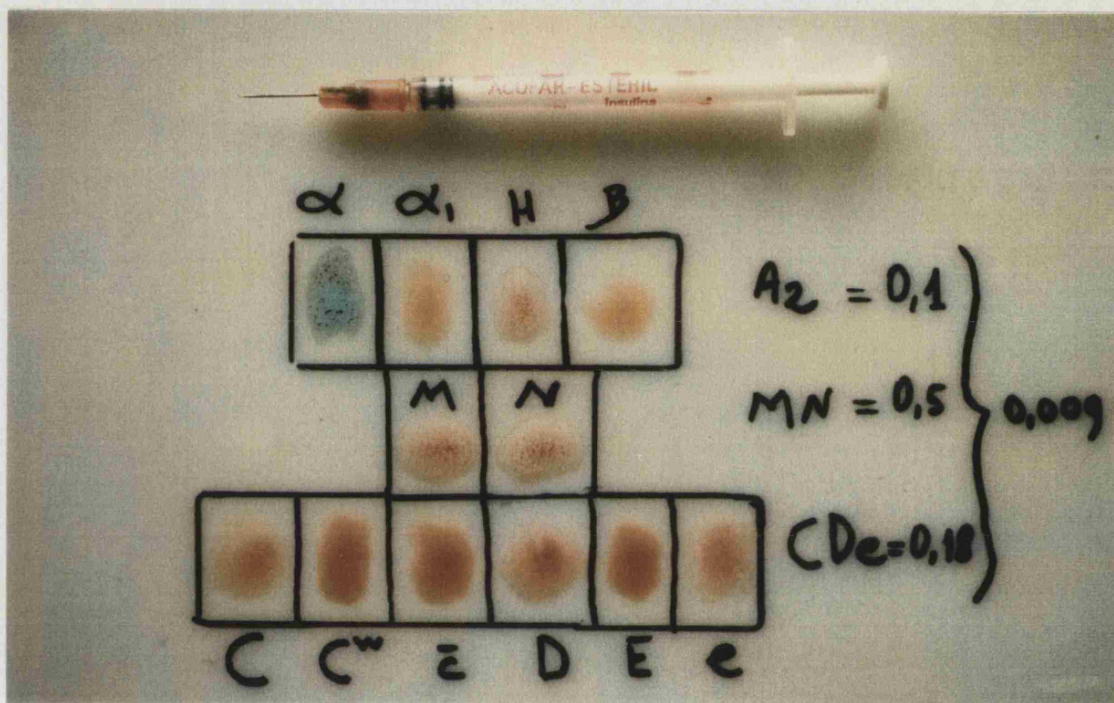


UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGIA
Y LEGISLACION SANITARIA

FACULTAD DE MEDICINA

PABELLON 7
TELEF. 394 19 59
FAX: 394 16 06
CIUDAD UNIVERSITARIA
28040 MADRID



(Cotejo de la sangre de una jeringuilla con la de un joven muerto por posible "sobredosis").

Se regeneró la escasa cantidad de líquido sanguinolento del interior de la jeringuilla con sol. de Alsever, y se procedió al tipaje por microtécnicas y test de Coombs. Los resultados fueron:

SISTEMA ABO= aglutinación con el suero anti-A y con la Lectina anti-H, pero NO con el anti-B ni con la lectina anti-A₁. Diagnóstico: grupo A₂ (frecuencia en la población =10%).

SISTEMA MN= aglutinación con ambos antisueros
Diagnóstico: MN (frecuencia: 50%)

SISTEMA Rh= aglutinación con los sueros anti-"D", "C" y "e".
Diagnóstico: CDe (frecuencia en la población =18%)

FRECUENCIA DEL FENOTIPO A₂ MN CDe = 0,1 x 0,5 x 0,18= 0,009

Al ser también la sangre del muerto A₂ MN CDe, las probabilidades que sólo por casualidad la sangre de la jeringuilla coincidiese sin ser suya es de solamente el 9 por mil.

Foto: Archivos.- Tesis Doctorales. "Los Grupos ABO en Medicina Legal".
J.Mª Ruiz de la Cuesta.

BIBLIOGRAFIA.....

1.- LANDSTEINER K

"über Agglutinationsercheinungen
normalen menschlichen Blutes"

Wein. Klin. Wochenschr.

14 (46): 1132:1134 (1901)

2.- LANDSTEINER y RITCHER

"Über die Verwendbarkeit individueller
Blutdifferenzen für die forensische
Praxis"

Zeitch. F. Med. beam. T XVI pp 85 (1903)

3.- BIFFI U

"Des hemagglutines du sang humaine et
de L'hématologie de la maladie de
Carrion"

Bol. Acad. nac. med. (Lima) 3(2) 424-425 (1903)

4.- BAECCHI B

"Sulla diagnosi individuale di sangue
humano"

1 Landsteiner

Arch. Antrop. Crim. Psq. med. Leg. 433-62

(1910)

5.- FLORENCE A

"Peut-on distinguer le sangue d'un
homme du sang d'un autre homme?"

Arch. Antrop. Crim. Criminol. Psychol Norm.

Pathol. 215-219 (1904)

6.- GALLI VALERIO B

"Die Agglutination der roten
Blutkörperchen des Menschen durch
homologe und heterologe sera and ihre
Verwendung in der gerichtlichen medicin"

Allg. Med. central-Ztg 41-43 (1905)

7.- VERDIER L

"Contribution a l'étude de la
différenciation individuelle du sang
humain"

thesis fac Toulouse (1906)

8.- LATTES L

"Sull'applicazione pratica della prova di
agglutinatione per la diagnosi specifica
et individuale di sangue umano"

Arch Anthr. Crim. Psch. Med. Leg. 310-325

(1913)

9.- LECHA MARZO A PIGA A

"Algunos experimentos sobre la
diferencia medicolegal de la sangre de
diversos individuos"

Rev Crim. Psq. Med. Leg. 668-71 (1924)

10.- BEAECCHI B

"Ueber die individuelle Diagnose des
menschlichen Blutes"

Friedreich's B. Gerich. med. Sanitätspolizei 97-
126 (1912)

11.- BEAECCHI B

"Ancora sulla diagnosi individuale
sangue umano"

Cesalpino 469-79 (1913)

12. - BEAECCHI B

"Isoagglutinatione e individualita del
sangue "

Riv. Med. Leg. Giurisprud 138-47 (1920)

13.- LATTES L

"L'individualita del sangue umano a la
sua dimostrazione medico-legale"

Arch. SAnthr.Crim. Psch. Med-Leg. 522-47 y
538-554 (1915)

- 14.- LATTES L**
 "L'Individualite su sangue humain et sa
 demonstrations Legale"
 Arch. Ital. Biol. 388-404 (1915)
- 15.- LATTES L**
 "Due casi pratici di diagnosi individuale
 di sangue umano"
 Arch. Anthrol. Crim. Psch. M-L. 298-303 (1916).
- 16.- LATTES L**
 "Praktische Erfahrungen über
 Blutgruppenbestimmung in Flecken"
 Dtsch Z. Gesamte Ger. 402-19 (1927)
- 17.- LATTESI and CANUTO G.**
 "Ancora un caso di diagnosi individule
 di macchie sanguigne"
 Rass in Clin. terap 248-252 (1926)
- 18.- LATTES L**
 "individuality of the blood in bilogy and
 in clinical and forensic medicine"
 Oxford Univ. Lond. (1932)
- 19.- BRUNNER L**
 "Die isoagglutination im eingetrocenten
 blute und das
 agglutininanreicherungsverfahren von
 M. A. Müller"
 Inagural-disser Univ. Zurich Fac. Med. (1927)
- 20.- HOLZER F J**
 "Ein einzaches Verfahren zur
 gruppenbestimmung an vertrockneten
 Blut durch agglutininbindung"
 Detcz Z. Gesante Gerich. med. 445-458 (1931)
- 21.- GETTLER A O and KRAMER H E**
 "Blood grouping in forensic medicine"
 J. Imn 32§1-29 (1936)
- 22.- FARAONE G.**
 "Su di tecnica di micro-extraccione a
 caldo delle aglutinine nelle macchie di
 sangue"
 Zacchia 166-78 (1924)
- 23.- HARLEY D**
 "Medico- legal blood group
 determination"
 Wm. Heinenamm medical box London (1943)
- 24.- NICKOLL LC**
 " the scientific investigation of crime"
 Butter-worth and Co. London (1956)
- 25.- MARCINKOWKI T**
 "Praktische modifizierung der
 lattesmetode"
 Dtsch. Z. gesamte gerich. Med. 246-67 (1959)
- 26.- FIORI A**
 " systematic procedure for micro-
 analysis of bloodstains"
 Excerta med. int. congr. 46-47 (1963)
- 27.- DUCOS J**
 "Utilisation d' hematies papainisees
 pour la depection des anticorpos anti-A
 et Anti-B dans les taches de sangre
 sec"
 Ann. Med. Leg. 519-21 (1960).
- 28.- FUNK H J and TOWSTIAK W.**
 " A practical mhetode for deectionABO
 agglutinins and agglutinoges in dried
 bloods stain"
 J. Forensic Sci 455-65 (1960)
- 29.- WIENER AS**
 "Isoagglutinins in dried blood stains. A
 sensiti Tecnique for their demonstration"
 J. Forensic Med.130-132 (1963)
- 30.- LUND H**
 "Relation of the concentration of the red
 blood cells to the sensitivy of the
 issoagglutination reaction"
 Arch. Path. 458-66 (1941)
- 31.- OUTER R.A.**
 "The biological individuality of dried
 human bloodstain"
 J. Forenssic Sci Soc. 22-51 (1965)

- 32.- KIND SS**
 "A modified absortion tecnique of determining the ABO group of bloodstain"
 Vox. Sang. 15-19 (1955)
- 33.- SCHULZ E**
 "ein Beitrang zur Durchführung der Mischagglutination inder Spurendiagnostik"
 Arch. kriminol 95-98 (1970)
- 34.- KISSLIN E and NEUMAN W**
 "Breitrag zum Nacheweis von H-substanzen and trockenblutspuren im Absorptionsverfahren und zur Erfassung shawacher Agglutinine im agglutiinwirkungsversuch nach Lattes"
 Arch. crimn. 141-45 (1972)
- 35.- MOUREAU PA et al.**
 "B-like antigen in blood-A of descomposed body"
 In For. Imn. Med. Pht. and Toxicology (1964)
- 36.-SCHIFF F**
 "Über gruppenpezifische serumperäcitine"
 Klin Vochenschr 667-680 (1924)
- 37.-LEVINE P**
 "Applications of blood groups in forensци medicine"
 Am J. Police Sci 157-68 (1932)
- 38.-MATTA D**
 "A critical examination of the blood groups and their medico-legal applications"
 The Egiptian University, Cairo faculty of Med. (1937)
- 39.- BALGAIRIES E and CHRISTIAENS**
 "Reserches experimentales sur la detection des isoagglutinines dans les taches de sang"
 Ann Med Leg Criminol Police scientif 215-18 (1937)
- 40.- WIENER AS and al.**
 "Kriminalisttik und forens"
 Wissen 6-31 (1971)
- 41.- WIENER AS and al.**
 J. For. Sci 1:89 (1956)
- 42.- WIENER AS and al.**
 J. For Sci 3: 593 (1958)
- 43.- WIENER AS and al.**
 "ABO blood groups and Lewis tipes"
 Stratton intercont. med book corp N.Y. (1956)
- 44.- KYSSI and MILLAN**
 Cited pag 299
 "Sourcerbook in fornensic serologi.."
 US Depart. of Justice USA (1983)
- 45.-FARAONE G**
 "Su di tecnica di micro-extracione a caldo delle agglutinine nelle macchie di sangue"
 Zacchia 6 166-78 (1942)
- 46.- HARLEY D**
 ver ref. num. 23 mismo capitulo.
- 47.- MERKELEY DK**
 "Isoagglutinins in dried blood stains"
 Am. J. clin. Pht. 190-192 (1953)
- 48.- WIENER ASS**
 "Isoagglutinins in dried blood stanis. A sensitive tecnique..."
 J. For. med 130-32 (1963)
- 49.- SANFORD AH.**
 "a modification of the Moss methode of determining isohemagglutination groups"
 J. Am. Med. Oss. 70:1221 (1918)
- 50.- KOLMER J A**
 "The influence of dessications upon natural Hemolysins and hemagglutinins in human sera"
 J.Imm. 399-402 (1919)

- 51.- KOLMER J A**
 "The influence of dessications upon normal isoagglutinins"
 J.Am.Med.Ass. 73:1459-60 (1919)
- 52.-KOLMER J A**
 "The influence of desication upon natural hemolysis hamagglutinins in human sera"
 Proc. Phat. soc. Phil.
 64-65 (1920)
- 53.- KARSNER HT and KOECKERT HL**
 "The influence of dessication on human normal isohemagglutinins"
 J Am Med Ass 1207-1210 (1919)
- 54.-SCHULTEZ H**
 "Haematgglutinations and it medicolegal bearing with obervations upon the teori of isoagglutinins"
 Br. J. Exp. Phatol 26-33 (1921)
- 55.- LATTES L**
 "Le diagnostic individuel des taches de sangue"
 Ann Med. Leg. Criminol Police. Scient 213-26 (1923)
- 56.- SIRACUSA V**
 "La sostanza isoagglutinabile del sangue"
 Arch. Anthropol. crim. Psch. M L 362-364(1923)
- 57.- KAWNSUKE Sera**
 cited in (ver ref. num 44 pag 300)
- 58.- CSCHIFF F**
 "Die technik der... forschung"
 J. Spriner Verlag Berlin (1926)
- 59.-POPOFF NW**
 "Zur frage der individuelle.... isoagglutination"
 Ukrain Zentralbi. Blutgruppen 3:177-222 (1929)
- 60.- HIGUCHI S**
 "Ueber den nachweis.... blutfleken"
 Z. Immuni. Forsc. Exp. Ther 60: 246-269 (1929)
- 61.- HOLZER FJ**
 ver ref num. 20 de este capítulo.
- 62.- WIENER AS**
 "Blood groups and transfusion"
 2ª edición ccTHOMAS Springfield and Baltimore (1939)
- 63.- SCHIFF F and BOYD WC**
 "Blood grouping tecnic"
 Intersciencie publishers N.Y. (1942)
- 64.- WITHE BJ**
 "Applications of blood grouping in the examinations of bloodstains"
 J. Forenssic Med. 1:333-337
- 65.- TERKELSEN F**
 "Die gerchtsmedizinische...Blutflenknen"
 Dtsch. z. Gemsante Gerich Med. 29-34 y 35-39 (1934)
- 66.-BOYD WC**
 "Blood grouping in forensci medicine"
 J. Immunol. 33:159-72 (1937)
- 67.- HARLEY D.**
 "Medicolegal blood group determination" WM Heineman London (1943)
- 68.- DAHR P**
 "Technik der blutgruppen und blutfaktoren bestimund"
 Gerge Thieme verlang Sutgartt (1953)
- 69.- TAN TT Y WONG MK**
 "A modified method of ABO grouping of blood stans"
 J. Forensic Sci Soc. 110-112 (1963)
- 70.- FUNKHJ y TOWSTIAK W**
 "A practical method for detecting ABO aglutinin and agglutinogens in dried blood stain"
 J. Forenssic Sci. 455-465 (1965)
- 71.- PONSOLD A**
 "Eine micromethode... capillarrochen"
 Dtsch. Gesamte Gerichtl 46-60 (1934)

CAPITULO V

INVESTIGACIÓN DE LA PATERNIDAD.

CONCEPTO DE MARCADOR GENETICO

Las pruebas de paternidad se basan en la existencia de marcadores genéticos en la sangre (hematíes, leucocitos y suero) que se transmiten de padres a hijos con una herencia mendeliana simple. Dichos marcadores se detectan en el laboratorio mediante técnicas bioquímicas, serológicas, inmunológicas, etc.

Un marcador genético debe cumplir una serie de condiciones:

- Su herencia debe ser simple y perfectamente conocida a través de estudios familiares.

- No debe cambiar con el paso del tiempo, apareciendo en el nacimiento y permaneciendo constante hasta la muerte no afectadas por el clima, enfermedades, etc.

- Su registro para el investigador debe ser neto, es decir, claramente positivo o negativo.

- Frecuencia ~~balanceada~~ en la población.

MARCADORES GENETICOS EN SANGRE

Son los actualmente empleados en la investigación de la paternidad, ya que se trata de caracteres hereditarios, que pueden ser objetivados mediante técnicas de laboratorio, no influenciados por causa no genéticas y que se manifiestan en su mayoría desde el nacimiento.

Estos factores se localizan a distintos niveles:

- Sobre la cubierta del eritrocito (grupo sanguíneo).

- En el plasma (proteínas Plasmáticas).

- En el interior del eritrocito (Enzimas intraeritrocitarias)

- En los linfocitos y otros tejidos (sistema HLA)

Grupos sanguíneos

Los grupos sanguíneos (ABO, MNSs, P, Rh, KELL-Cela (Kk), Duffy (Fy), Kidd (Jk), Lutheran (Lu), Lewis (Le), Do y Xg) se evidencian con antisueros específicos mediante una reacción inmunológica.

Proteínas plasmáticas

*Inmunoglobulinas (Gm, Inv, YIsf y Am) son identificadas mediante una reacción de inhibición de la hemaglutinación con antisueros específicos y hematíes sensibilizados.

*Hp, Tf, C³, Gc, Pi, Orosomucoide, Plasminógeno y factor Bf son determinadas con técnicas electroforéticas y de isoelectroenfoque.

Enzimas Intraeritrocitarias

ADA, AKA, GPT, 6-PGD, PGM₁, AcP, EsD, G-1-UTE y GLO, entre otras son determinadas por técnicas electroforéticas y de isoelectroenfoque.

Grupos tisulares leucocitarios y plaquetarios

*Antígenos HLA (Los loci A, B, Cw y DR son los más estudiados por su alto polimorfismo y su alto rendimiento)

*Antígenos antiplaquetarios.

Determinados ambos por técnicas de isoanticuerpos antileucocitarios y antiplaquetarios.

La exclusión de la paternidad sigue las reglas de la herencia mendeliana.

1) Al ser los factores sanguíneos caracteres mendelianos simples condominantes, que en el niño aparezca un gen ~~que no lo tenga su madre ni el presunto padre.~~

2) Que el niño sea homocigótico ~~en~~ un sistema y el presunto padre presenta homocigosis contraria para ese mismo sistema.

3) Que el niño esté presente, un gen de obligada procedencia paterna y el presunto padre carezca de él.

Las causa de error en las peritaciones de paternidad como también en criminológica pueden ser:

-Origen técnico.

-Origen Científico.

Origen Científico

-**Transfusiones previas:** No es frecuente ya que la supervivencia de estos grupos es escasa.

-**Edad:** Algunos factores completan su desarrollo durante la vida extrauterina, por ello estas pruebas se hacen completamente fiables por encima de los 8 me.~~ses~~
~~de edad.~~

-Ciertas enfermedades: En procesos patológicos muy puntuales se pueden modificar estos sistemas.

-Silencias (Genes silentes): En los casos de marcadores enzimáticos, la posible silencia puede ser detectada fácilmente cuantificando la actividad enzimática de los heterocigotos portadores de un alelo silente, ya que la actividad enzimática estaría reducida cuantitativamente.

Toda investigación de paternidad persigue dos objetivos: establecer la no paternidad de un hombre, falsamente acusado, y de no haber sido excluido, buscar argumentos bioestadísticos en favor de su paternidad biológica, es decir probar su paternidad.

Exclusiones aisladas para un único sistema, nunca deberán ser consideradas sin realizar un cálculo de probabilidad de paternidad y de la proporción de excluidos sin tener en cuenta el marcador responsable de la exclusión.

Con parámetro matemático, en la investigación de la paternidad, se emplea la probabilidad de exclusión "a priori" de un sistema de dos o más alelos condominantes.

Para la prueba positiva se utiliza el cálculo del índice de paternidad, el índice de paternidad acumulado, la probabilidad de paternidad y la eficiencia bioestadística.

Los marcadores séricos-proteicos, enzimáticos, antígeno eritrocitario y HLA consiguen un 99.99964% de probabilidad global de exclusión "a priori".

El límite mínimo que debe ser alcanzado para considerar una paternidad como prácticamente probada es, en la prueba positiva del 99.73 %.

En la práctica pericial, se utiliza los predicados verbales de Hummel (1971), que no son más que la expresión gramatical resultante de los cálculos correspondientes a la probabilidad de paternidad (P) y el índice de paternidad (IP) alcanzados en la prueba. Estos son los siguientes:

PREDICADOS VERBALES DE HUMMEL

Probabil. de paternidad	Indice Patern.	Probabilidad
99,8 a 99,9	399:1	Práct. probada
99.0 a 99.7	95:1	Extrem. probable
95.0 a 98.9	19:1	Muy probable
90.0 a 94.9	9:1	Probable
80.0 a 89.9	4:1	Inisuada
menor del 80.0	4:1	No útil

Tabla 1
PROTEINAS UTILIZADAS EN LA INVESTIGACION DE LA PATERNIDAD

SISTEMA	DESCUBRIMIENTO
Haptoglobulina (Hp)	Polonouski y Jayle (1938)
Proteína (Gc)	Hirschfeld (1959)
Alfa ₁ -Antitrip. (Pi)	Laurell y Eriksson (1963)
Transferrina (Tf)	Smithies (1957)
Complemento C2	Alper (1976)
Complemento C3	Wiener Demeulenaere (1967)
Complemento C4	Rosenfeld (1969)
Complemento C5	Harris (1962)
Complemento C6	Hobart (1974)
Complemento Bf	Alper (1972)
Lipoproteína Apo A1	Simons y Helenius (1969)
Lipoproteína Ag	Allison y Blumberg (1961)
Lipoproteína Lp	Berg (1963)
Factor Coagul. XIII A	Board (1979)
Antitromb. (At III)	Widinger (1983)
Plaminógeno (PLG)	Hobart (1979)
Pseudocolinester. (E1)	Hobart (1953)
Transcobalamin (TC II)	Frater-Schroeder (1977)
Ceruloplasmina (Cp)	Martin (1961)
Amilasa Sérica (AMU 2)	Kamarit y laxová (1965)
Orosomucoide (Or)	Schmid y y Binett (1961)
Inmuglobulina	Gm Grubb (1956)
Inmunoglobulina Km	Ropartz (1961)

Tabla 2**ENZIMAS ERITROCITARIAS Y LECOCITARIAS**

SISTEMA	DESCUBRIMIENTO
Fosfoglucomutasa-1 (PGM ₁)	Spencer
Fosfatasa Acida (AcP)	Hopkinson (1963)
Transam. glutamicopiruv. (GPT)	Chen y Giblett (1971)
Esterasa D (EsD)	Fildes y Harris (1963)
Adenilatoquinasa (AK)	Spencer (1968)
6, Fosfoglutanoladesh. (6-PGD)	A Fildes y Parr (1966)
Glucosa-6-fosfatodhes. (G-6-PD)	Childs (1958)
Glioxalasa (GLO I)	Kömpf (1975)
Galact.-1-P- uridiltransferasa	Beutler (1965)
Uridil- monofosfoquinasa (UMPK)	Giblett (1974)
Fosfoglicolato- fosfatasa (PGP)	Barker y Hopkinson (1978)
α - aminolevulinatodehidrasa	Battistuzzi (1981)
Adenosin - homocisteinhidrolasa	Bissbort y Bender (1983)
Peptidasa A (Pep A)	Lewis (1973)
Ez. málici mitocondrial (ME _M)	Cohen (1971)
Glucosa-6-p-desh. leucocitaria	King y Cook (1981)
α -fucosidasa (α -FUC)	Turner (1975)
Fosfoglucomutasa-3 (PGM ₃)	Hopkinson y Harris (1968)
Hexoquinasa III (HK III)	Povey (1975)
Cistidindesaminasa (CDA)	Teng (1975)

INVESTIGACION DE LA PATERNIDAD

“ La sangre del padre y del niño se vierten gota a gota dentro de una vasija con agua. La formación de un precipitado o su ausencia, son la prueba positiva o negativa de la paternidad. Cuando se quiere establecer la paternidad de un difunto, se vierte la sangre del niño sobre los huesos del cadaver: si no se logra limpiar de ella los huesos, es un signo de la paternidad”.

Esta hermosa cita fue encontrada por un estudiante de Medicina (Alexander WIENER) (1) en la biblioteca médica de la Armada USA, cuando preparaba su primer trabajo científico, poco antes de graduarse. El trabajo consistía en el estudio de los grupos ABO y su herencia familiar, y en él se concluía que la hipótesis de BERNSTEIN sobre un solo locus con tres alelos era la verdadera, en vez de la de HIRSZFELD de dos locus con dos pares de genes, en cromosomas independientes. Como todos los trabajos de quien sería el más constante y fiel colaborador del padre de la inmunología, y que con el tiempo se convertiría en el líder de esta rama médica en USA, llama la atención lo exhaustivo, meditado y profundo de todos los aspectos que trata, y el poner dicha cita fue el motivo de su presentación a LANDSTEINER, fruto de lo cual sería el descubrimiento del sistema RH y de un sin fin de aportaciones a la inmunohematología.

Los franceses, con su patriotismo a flor de piel, se adueñaron de esta cita, y en el frontispicio del excelente capítulo 28 del libro de Medicina Legal de Dérobert, escrito por SALMON (2), se registra fielmente a como la hemos transcrito, atribuida a Dérobert.

El libro sobre folklore chino en el que viene dicha cita es el “Sen-en-Roku” y data de 1247. Aunque lo que dice la cita nos hace sonreír hoy día, no deja de ser una maravillosa premonición del valor que, 8 siglos después, adquiriría la sangre como instrumento esencial en la investigación de la paternidad.

Hasta el descubrimiento por MENDEL (3) de las Leyes de la Herencia, cualquier intento de investigación científica de la paternidad carecía de base firme. El fraile agustino logró arrebatarse, con su inteligencia impar, uno de los secretos más celosamente guardados por la naturaleza: las Leyes inmutables que, desde el principio de los tiempos, rigen la transmisión de la vida. Conocidas esas Leyes, ya se podría estudiar caracteres en el niño y en su presunto padre que indicasen una afirmación de paternidad o que la excluyesen.

Cuando en 1901, LANDSTEINER (4) anuncia al mundo el descubrimiento del sistema de grupos sanguíneos ABO, se abre la posibilidad de emplear en la investigación de la paternidad los primeros factores que, transmitiéndose con las Leyes de MENDEL, los poseen todas las personas desde el nacimiento hasta la muerte y que permanecen inmodificados durante toda la vida: son los primeros “marcadores genéticos” para la investigación de la paternidad. Por medio de ellos se puede clasificar a las personas en grupos netamente distinguibles en el laboratorio mediante una técnica sencilla, segura y perfectamente reproducible. Como dichos grupos, en casi todos los pueblos de la tierra, muestran polimorfismo, la posibilidad de excluir a un inocente queda felizmente inaugurada para la Medicina y para la Justicia.

Se tardaron 23 años en emplear los grupos ABO en investigación de paternidad (5) y, en realidad, debió esperarse unos años más a que la prueba estuviese suficientemente madura para uso médico-legal. Ni se usaban, al principio, antisueros hiperinmunes (de seguridad total), ni se conocía el modo de la herencia de dichos grupos, por lo que bajo la hipótesis vigente podían nacer hijos "O" de un progenitor "AB" con un progenitor "O". Si tenemos en cuenta que se hicieron miles de peritajes con esas limitaciones, fácilmente comprenderemos que los errores judiciales, por el empleo de una prueba biológica, no suficientemente madura, fueron incontables.

Como también, por coincidencias del destino, en 1900 se redescubrieron las Leyes de MENDEL por tres investigadores, simultánea e independientemente, el interés del mundo científico se volcó en observar rasgos y enfermedades en el hombre que pudiesen heredarse según las Leyes de MENDEL. Otro estudiante, FARABEE (6), describe una familia con una tara muy peculiar: dedos de manos y pies anormalmente cortos. Estudia varias generaciones y comprueba que la tara se transmite sujeta a un patrón Mendeliano dominante, apareciendo, aproximadamente en el 50% de los descendientes, si el progenitor está afectado. En la figura de la página siguiente puede apreciarse el pedigree estudiado por FARABEE en su tesis.

Los descendientes de esta enorme familia han sido seguidos durante muchos años por Mc KUSICK (7), comprobándose los efectos inmodificados del gen o genes de dicha tara.

Anotaba FARABEE en su monografía que no sólo los dedos eran cortos, sino que a veces faltaba alguna falange, y que la estatura solía estar disminuida, pues encontró tres hembras con 1,59 metros solamente. Ello se debía a la cortedad relativa de brazos y piernas. Escribía el autor:

"Las personas aparecen perfectamente normales y sufren pocos inconvenientes por sus malformaciones. Sólo las jóvenes se quejan que por la cortedad de sus dedos no podían alcanzar la octava completa y por ello no eran buenas pianistas".

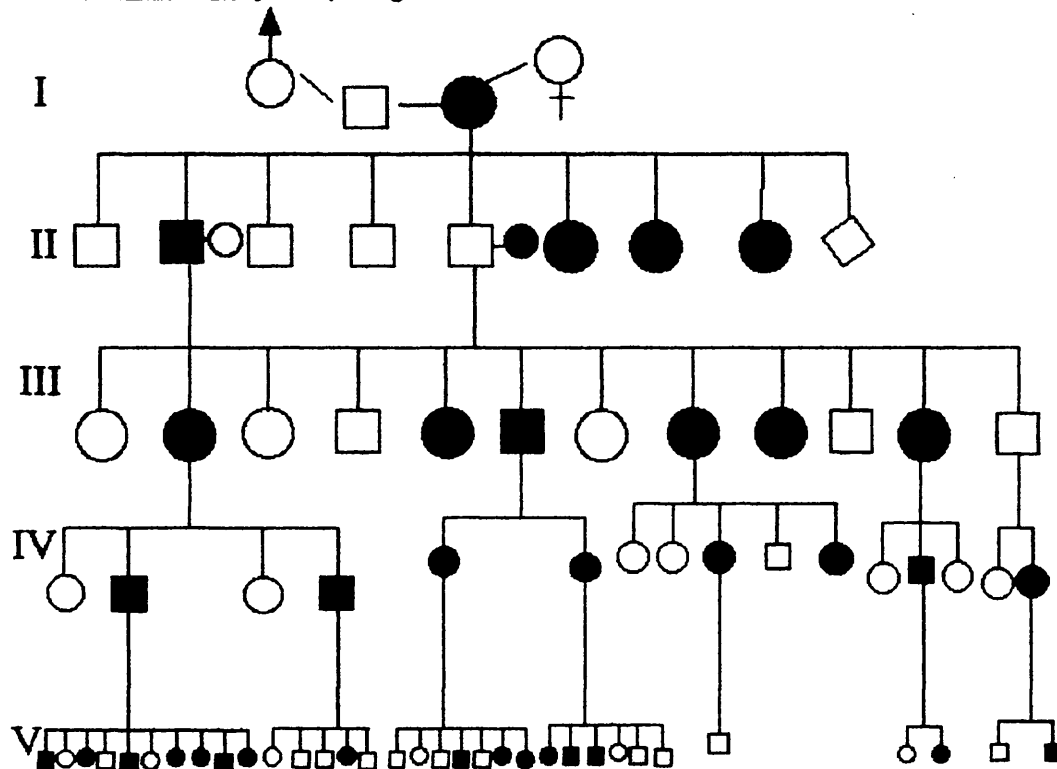
De la 2ª a la 5ª generación encontró 36 afectados, trece mujeres y 23 hombres, transmitiéndose el rasgo a los hijos directamente desde el padre afecto, con independencia del sexo. Aunque FARABEE no prestó atención especial a los descendientes de los "NO afectados", Mc KUSICK pudo comprobar, de acuerdo a lo esperado, que estaban libres de la anomalía en todos sus descendientes.

Los resultados a RX, por Mc KUSICK, demostraron que también estaban afectados los cartílagos apofisarios de piernas y brazos.

Merece la pena que nos extendamos en la braquidactilia porque es el paradigma de las taras dominantes, conduciendo a una neta y regular anormalidad en el heterocigoto (afectado). Las familias exhiben dos rasgos, que desde entonces se han mostrado como los "obligados" en la herencia dominante:

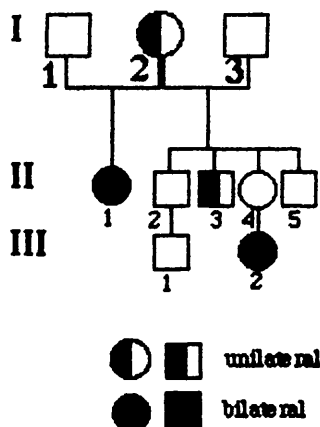
1) las anomalías son casi idénticas en todos los miembros de la familia, apareciendo siempre en las cuatro extremidades.

2) la anormalidad afecta poco al bienestar de los afectados, siendo la reproducción normal y los pedigris extensos.



Pedigree original de FARABAEE (1903) sobre una extensa familia con Braquidactilia.

Como siempre, los símbolos en negro indican la afección.



Penetración incompleta

En una familia con Retinoblasta.

La mujer II-4 aparece sana y debe ser heterocigota (por tanto afectada):

Ya que tanto su madre I-2 como su hija III-2, están afectadas.

Si bien la alcaptonuria la precedió como enfermedad de demostrada herencia Mendeliana (8) al ser descrita por GARROD un año antes, la braquidactilia es la tara morfológica que tiene la misma primogenitura y, por azares de la vida, sirvió para el primer informe sobre investigación de paternidad, con base científica. Efectivamente, según comunicó MOHR (9), en 1919 un tribunal noruego asignó padre a un niño gracias a la braquidactilia. El genetista hizo mostrar las manos del hombre señalado por la madre al Tribunal, que se percató de lo anormalmente corto de sus dedos, y al volver la atención sobre el niño, con el mismo defecto, les explicó que dicha rareza se debía a un gen anormal de bajísima presentación en la población, y que las posibilidades que aquella mujer tenía en haber “encontrado” otro hombre braquidactílico, al tiempo de la concepción del niño, resultaban remotísimas. Esta misma “coletilla” se sigue empleando en los dictámenes de afirmación de paternidad cuando encontramos que el presunto padre y el niño “comparten” algún grupo sanguíneo, o cualquier otro polimorfismo, de inusitada baja frecuencia entre la población.

Si todas las taras o enfermedades que se transmiten con patrón de herencia Mendeliana dominante, se manifiestan en los descendientes con igual penetración, estaríamos seguros al emplearlas como marcadores genéticos, pero desgraciadamente, como demostró TIMOFEEFF-RESOUSKY en 1931 (10), por culpa de la penetrancia incompleta, algún rasgo dominante, no se presenta en algún descendiente, pero al aparecer en los hijos de éste, “saltándose” una generación, semeja un pedigree recesivo o bien encontramos una cifra de afectados substancialmente más baja que el 50% esperado.

Este es el talón de Aquiles de las taras y enfermedades dominantes para su uso como “marcadores genéticos” en examen de paternidad.

No obstante, de su aceptación indiscriminada a su rechazo total, cabe un término medio como el recomendado por PROKOP (11), que cuando describe las condiciones del Perito o experto de clase superior, además de los conocimientos profundos en inmunohematología, se les exige conocimientos de antropología y genética, para poder apreciar, en el momento de la extracción de sangre al niño, una tara dominante “que podría completar decisivamente su informe”..

Como modelo de las limitaciones que la penetrancia incompleta crea en las taras dominantes, para poder ser aceptadas como “seguros” marcadores genéticos, exponemos en la página destinada al pedigree de FARABEE, una familia afecta de retinoblastoma, registrada por VOGEL (12), en el que la mujer II-4 (señalada con una flecha) aparece sin retinoblastoma (es decir, sana), pero que por ser, a su vez, hija de una afectada (I-2) y madre de otra afectada (III-2), debía ser, ella misma, heterocigota a ese gen dominante que ha “fallado” en su expresión. Si en este mismo caso la persona II-4 fuese varón y padre del III-2, nos habríamos quedado sin poder emplear el “marcador-retinoblastoma” en la investigación positiva de paternidad. Téngase en cuenta que según MACKLIN (13) la frecuencia del retinoblastoma es de 1/23.000, por lo que las probabilidades de paternidad del II-4 sobre el III-4 serían, nada menos, que del 99,99%; es decir, una paternidad prácticamente probada.

Prototipo de Tara Mendeliana Dominante : "EL PELO LANOSO"



En esta familia Noruega descrita por MOHR en 1932, la madre y tres hijos la exhiben.

Pelo liso / pelo lanoso. El pelo lanoso es una característica de herencia autosómica dominante - (Padre pelo liso - Madre pelo lanoso)

En estos casos de marcadores de inusitada baja frecuencia, del tipo de taras o enfermedades, o bien de polimorfismos rarísimos, es conveniente extremar la prudencia en cuanto a descartar a otros varones consanguíneos del presunto padre, como hombres que hayan podido tener acceso carnal con la mujer al tiempo de la concepción del niño.

En el libro de RACE y SANGER (14) se refiere un fenotipo que solo ocurre una vez de cada 10 millones de hombres; lo relatan de la siguiente manera:

“si el acusado y el niño son “B” “NS” C^WD^Ue/ cde Lu^a K, mientras que la madre es de fenotipo común, la paternidad quedaría demostrada suponiendo que los hermanos del acusado tengan una coartada que pruebe su inocencia”.

Nosotros hemos encontrado, en un caso, un desdoblamiento de la banda 1 de la alfa-1-antitripsina, cuya frecuencia en la población es de sólo 1:7.000 aproximadamente. Prácticamente, este tipo de marcadores indican “Paternidad positiva” fuera de toda duda razonable. En el caso mencionado se debatía la paternidad sobre un joven de 20 años, de dos hermanos de unos 45 años, quedando uno excluido al carecer de la banda desdoblada que tenían tanto el joven (hijo) como el otro hermano. Combinando este hallazgo con el resto de marcadores, un hermano quedó excluido, como padre biológico (era precisamente el padre legal), por tres marcadores distintos, mientras que el no excluido alcanzó unas probabilidades de paternidad del 99,999999%.

Dentro del sistema ABO solo es digno de resaltar el marcador “A₃” cuya frecuencia tan baja indicaría paternidad positiva, si lo comparte el niño y carece de él la madre.

Resultaba perfectamente plausible que médicos y antropólogos basasen los informes de paternidad con datos sobre el parecido corporal, o sobre multitud de medidas, en el tiempo en que no disponían de los “seguros marcadores” sanguíneos. Hoy día aquellos esfuerzos están periclitados, y solo son dignos de tener en cuenta en situaciones muy especiales.

Debemos rendir un homenaje al esfuerzo de tantos investigadores centro-europeos que constituyeron un gran cuerpo de conocimientos en esta rama, pero que hoy resulta anacrónico.

Los métodos clásicos de la antropología estaban perfectamente definidos por SIEMENS (15, 16 y 17) para su uso médico-legal, y se basaban en la comparación de un gran número de caracteres físicos visibles y en ciertas medidas y parámetros antropológicos. demostraron ser especialmente útiles, en este campo, los siguientes caracteres:

*Color, forma y densidad del pelo.

*Forma y proporciones de la cara.

Ejemplos de algunos rasgos mendelianos simples.
Relativamente comunes

HERENCIA DOMINANTE



- a) calvicie común (Eisenhower)
- b) Hoyuelo en la barbilla (Kirk Douglas)
- c) Agujero en la oreja (con superficiales : Frecuencia 1 %)
- d) Tuberculo de Darwin (frecuencia del 10 al 20 %.
- f) Ptosis congénita (penetración incompleta: 60 %)
- g) Camptodactilia.
- h) Pilosidad en las falanges medias.

Detallada estructura de ciertas regiones faciales, tales como: el ojo (incluyendo, además del color y estructura del iris, a la forma y oblicuidad de los párpados y a las mismas cejas), detalles de la nariz, y región de la boca, así como la barbilla y mentón, con especial mención al hoyuelo. Lo mismo sucedía con las orejas, que eran estudiadas en su forma, tamaño, lóbulo y demás regiones anatómicas. No se libraba del estudio el atento escrutinio de las manos y pies. Capítulo especial lo constituían las huellas dactilares, sobre las que se basa, para algunos autores (OKROS), el estudio de la paternidad. El color y la estructura de la piel, con especial mención a los lunares y pecas, es un dato que históricamente acaparó la atención de los iniciados en estos temas desde la más remota antigüedad. El valor identificativo, como señal de parentesco, de lunares o pecas en la misma región anatómica, ha quedado impreso en las distintas capas sociales de la humanidad. Hace unos meses una madre de unos 40 años me mostro el pene de su hijo de 5 años para que viese un lugar en su lateral izquierdo, casi en la base. : "Esa misma peca y en el mismo sitio podría usted comprobarla en el pene del padre". Y así sucedía, efectivamente. Menos mal que los marcadores habituales demostraron la paternidad, más allá de toda duda razonable, pues sino nos habríamos encontrado en una situación embarazosa, al descollar este dato empírico sobre los científicos.

Como destacaban todas las autoridades en la materia, era la experiencia del investigador la que daba validez a este tipo de exámenes, y esa experiencia solo se adquiría con muchos años de práctica.

Autores de la talla de SCHIFF y VERSCHUER, afirmaban que (18) no solía haber divergencia entre los resultados de los métodos serológicos y los antropológicos.

Quien tenga una mínima experiencia en el estudio con gemelos, en cuanto a la mono o dicigosidad, comprenderá que hay que repetir un resultado serológico que se oponga a lo "evidente" del parecido o por el contrario a una simple diferencia en el color del iris. Un resultado serológico discordante indica dicigosidad, aunque hubiera 50 resultados concordantes, previos. Por ello, la prudencia mandará repetir el resultado anómalo.

En el capítulo 23 del famoso libro de RACE y SANGER, en su 5ª edición, (19), al tratar sobre el diagnóstico gemelar, tras usar los métodos estadísticos y científicos preconizados por COTTERMAN (20), SMITH y PENROSE (21) y FISHER (22), tienen una cita que viene al hilo de lo útil de lo subjetivo si detrás hay una gran experiencia:

"encontramos que prácticamente nunca, los grupos sanguíneos contradecían la opinión del señor JAMES SHIELDS, sabio observador de la unidad genética del Hospital de Maudsley, desde donde nos remitían la sangre de los gemelos para su estudio".

El rasgo utilizable en estos estudios, idealmente, debería consistir en el producto único de un único gen. Sabidolo raro que los entrecruzamientos entre genes estrechamente ligados (es sistemas de grupos sanguíneos se les llama haplotipos: MS, Ns, CDe, cDE etc) aunque en el sistema HLA hemos encontrado un entrecruzamiento cada 80 análisis aproximadamente, por lo que aquí si hay que tener en cuenta muy de cerca dicho fenómeno; en teoría admitiríamos la herencia de rasgos que pasan de generación en generación y que se deben al efecto de varios genes ligados.

Entre los marcadores históricos, además de la repetida braquidactilia, tendríamos el mechón blanco, la ceguera nocturna, ambos seguidos, sin notar modificación, por estudios familiares en dos o tres siglos. Pero destaca sobre todo la Mandíbula de los Habsburgos, que aparece en cuadros donde se plasma al emperador Maximiliano, se trasmitió a su nieto Carlos V y apareció en Alfonso XIII. Es una pena que se que se perdiesen rasgos como los dedos en pinzas (de la famosa estirpe de Generales y Cónsules romanos, los Escipiones), y multitud de otros, descritos en libros de Historia o literatura. Verdaderamente la rareza era tal que quedaban confinados a una familia y era como un sello indeleble de su individualidad. Ningún conjunto de marcadores modernos podría dar una probabilidad tan alta de paternidad como alguno de esos rasgos "con tal que los consanguíneos del varón señalado como padre tuviera coartadas favorables".

Debido a la rareza de la mayoría de los marcadores descritos, no debemos contar con ellos en las pruebas rutinarias, pues pasaran años hasta encontrarnos algunos.

Es muy frecuente que en el momento de la extracción nos encontremos con parecidos o disimilitudes muy evidentes: niño rubio y de ojos azules con madre y presunto padre morenos y de ojos castaños. Aunque a primera vista parece que eso indica exclusión, no siempre sucede, pues al ser el color azul recesivo con respecto a los iris castaños, y el pelo rubio recesivo también respecto del pelo castaño, los padres pueden ser híbridos que lleven oculto genes para el iris azul y el pelo rubio. No obstante con algo de experiencia la impresión suele ser correcta, y si el color del iris del niño (herencia poligénica e influible por el ambiente, y por lo tanto muy poco fiable en estos estudios) es de un azul muy claro y puro, y su pelo además de ser rubio es lacio en vez del rizado y negro de su presunto padre, las posibilidades a priori están a favor de la exclusión.

Mucho más fiable es el camino inverso: que el niño presente rasgos dominantes, tales como ojos castaños y pelo negro y rizado, mientras su madre y acusado los tengan recesivos: ojos azules y pelo rubio y lacio.. En genética no se puede dar lo que no se tiene, y por lo tanto, aquí, sí habría un fundamento más serio para la exclusión de la paternidad. Tenemos recogidos varios de estos casos, que los marcadores sanguíneos confirmaron la exclusión.

Hace falta una llamada de atención: no puede excluirse la paternidad por que el hijo aparezca con ojos o pelo o piel más oscura, ya que puede haber recibido todos los genes "oscuros" de ambos progenitores y tener una fórmula genotípica más cargada de oscuro.

En estos aspectos los estudios más aprovechables son los de SCHEINFELD (23), FRASER (24) y el propio BRYANT (25).

En cuanto al listado de enfermedades o taras dominantes que serían aprovechables en medicina legal para estos fines identificativos, hay multitud de publicaciones desde hace muchos años:

Así en su famoso libro "Genetics for medical students" FORD (26) cita 111 de tales taras o enfermedades.

SANCHEZ CASCOS (28) es mucho más exhaustivo, y aunque refiere muchos que no son identificables en el fenotipo físico (que es lo que nos ocupa) hace un resumen del Mac KUSICK muy asequible. Otro autor muy estimable es LENZ, que da una lista muy importante en el pequeño libro de bolsillo de la Salvat (29).

Hay una gran profusión de libros modernos con excelente iconografía, siendo muy estimable el de HARTL (30).

Pero la Biblia obligada, es el catálogo de Mac KUSICK: "Mendelian inheritance in man" cuya última edición recoge todos los cuadros registrados en la literatura (31).

Para fines forenses la orientación debe ir, sobre todo, a los rasgos antropológicos:

En la lista elaborada por el autor "ni están todos los que son ni son todos los que están", pues, además de su obligada limitación, algunos rasgos dominantes van con el dato (v) cuando son variables en su presentación, no totalmente confirmados en todos los casos, o sobre todo, de pertenencia incompleta: (pag. siguiente)

LISTA DE RASGOS Y ENFERMEDADES MENDELIANAS DOMINANTES

- * Acanthosis nigricans (v).
- * Acondroplasia (enanismo).
- * Adiposis dolorosa (v)
- * Agenesia dentaria incisivos (v)
- * Agenesia renal (v).
- * Agenesia ureter (v)
- * Alopecia areata (v)
- * Albinismo (un 10% de sus formas)
- * Amiloidosis.
- * Anomalías del iris (aniridia) (v)
- * Anomalías del esmalte dentario.
- * Anomalías de la cornea.
- * Anomalías de May Hegglin
- * Anomalías de Pelger Huet
- * Anoniquia
- * Anosmia congénita.
- * Apéndices auriculares (v)
- * Apéndices nucleares en células sanguíneas.
- * Aplasia congénita del cutis (v).
- * Aracnodactilia (v)
- * Atrofia cerebelosa tipo I
- * Atrofia cortical de Pick
- * Atrofia cortical de Alzheimer.
- * Atrofia del nervio auditivo.

- *Atrofia muscular progresiva (Kugelber-Welander) (v)
- *Atrofia olivopontocerebelosa tipo Menzel.
- *Atrofia Nervio óptico.
- *Ataxia P. Marie.
- *Ausencia de algún músculo.
- *Blefarofimosis (varias formas)
- *Braquidactilia (en todas sus variedades.
- *Camptodactilia.
- *Calvicie prematura.
- *Canicie prematura
- *Catarata congénita (difusa, nuclear, zonular, polar)
- *Cerumen (diversas variaciones)
- *ceguera nocturna.
- *Coiloniquia.
- *Coloboma palpebral (en diversas asociaciones) (v)
- *Condrocalcinosis (varios tipos)
- *Condrodisplasia matafisaria. (Tipos I y II)
- *Coproporfiria hereditaria.
- *Corea de HUNTINGTON.
- *Coreoatetosis benigna.
- *Coreoatetosis paroxística.
- *Cornea (anomalías: plana, en banda, distrófica etc.)
- *Cutis anserino.
- *Cutis laxa.

Deficit de 6-fosfoglutonato dehidrogenasa.

- *Deficit glutation-reductasa.
- *Deficit del sistema complemento.
- *Degeneración espinocerebelosa tipos Sanger y Becker.
- *Denticiones múltiples familiar.
- *Dentina opalescente.
- *Dientes supernumerarios.
- *Dientes caducos.
- +Diabetes insípida juvenil (v)
- *Diabetes renal.
- *Discondrosteosis Leri-Weil.
- *Dislexia grave congénita
- *Disóstosis cleidocraneal.
- *Disóstosis craneo-facial (enf. de Crouzon).
- *Displasia epifisaria múltiple.
- *Displasia espondiloepifisaria.
- *Displasia espondilometafisaria (v)
- *Displasia diafisaria
- *Displasia pulmonar fibroquística.
- *Distrofia ectodérmica anhidrótica (v)
- *Distrofia fascio-escápulo-humeral.
- *Distrofia oculo- faríngea.
- *Distrofia miotónica.
- *Distrofia uñas, con ausencia de rótula (v)
- *Distrofia corneales en sus variados tipos.
- *Distrofia dentaria diversas (v)

- *Divertículos esofágicos (algún tipo)
- *Duplicidad renal. (v)
- *Espina bífida.(v)
- *Enfermedad de OSLER.
- *Enfermedad de RECKILNGHAUSEN
- *Enfermedad de PERTHES.
- *Enfermedad de WILLEBRAND
- *Enfermedad de DARIER
- *Epicanto (v).
- *Epiloia (v)
- *Epispadias. (v).
- *Esclerosis corioidea.
- *Esclerosis múltiple $\text{E}v \neq$
- *Esclerosis Tuberosa
- *Esclerosis Lateral amiotrófica (en un 10% de los casos)
- *Epidermolisis bullosa
- * Edema angioneurótico.
- *Enanismo tipo I.
- *Eliptocitosis.
- *Esferocitosis.
- *Espondilitis anquilosante.
- *Erupción bullosa palmoplantar. (v).
- *Estenosis de los conductos lacrimales.
- *Estenosis muscular subaórtica.
- *Estomatocitosis

- *Estrabismos congénitos.
- *Exóstosis múltiples.
- *Feminización testicular.
- *Fístulas auriculares congénitas.
- *Fisura palatina (v)
- *Fisura Labiopalatina. (v)
- *Fundus distrofia (v)
- *Fusión vertebral C2-C3
- *Glaucoma (v)
- *Glicosuria renal.
- *Gota (v)
- *Hallus valgus.
- Hallus rígido (v)
- *Heterocromia del iris.
- *Hidroureter (v)
- *Hiperfalangia del pulgar.
- *Hipercolesterinemia familiar.
- *Hiperlipoproteinemia tipo II
- *Hipertermia maligna (susceptibilidad a los analgésicos).
- *Hiperplasia gingival.
- * Hipersegmentación de los neutrófilos.
- *Hipersegmentación de los eosinófilos.
- *Hipertelorismo (síndrome de CREIG)
- *Hipodoncia (v)
- *Hipoplasia facial y craneoestenosis (v)

- *Hipoplaxia del esmalte (v)
- *Hipocondroplasia.
- *Ictericia acolúrica familiar.
- *Ictiosis (v)
- *Impresión basilar primaria.
- *Incontienencia pigmenti.
- *Leuconiquia.
- *Linfoedema.
- *Luxación congénita de cadera (por laxitud articular general)
- *Mandíbula Habsburgo.
- *Mechón blanco.
- *Megalocórnea.
- *Microcórnea.
- *Microftalmos (v)
- *Miotonía congénita (v)
- *Microtia.
- *Neuropatía de Charcot-Marie-Tooth
- *Neuropatía de Roussy-Levy.
- *Neuropatía de Dejerine-Sottas
- *Neutrófilos gigantes.
- *Nistagmus congénito (v)
- *Nódulos Heberden (desde los 60 años) (v)
- *Oftalmoplejia.
- *Oligodactilia (mano en pinza, monodactilia)
- *Onicogriposis (uñas de garra).

- *Orejas de gato.
- *Oreja velluda.
- *Osteogénesis imperfecta (v)
- *Osteoartritis primaria generalizada.
- *Osteopetrosis benigna.
- *Otosclerosis.
- *Parálisis periódicas familiares.
- *Paramiotonia congénita.
- *Paraplejia espástica tipo I.
- *Pectus excavatum (v)
- *Pelo lanoso.
- *Pénfigo.
- *Politelia.
- *Polidactilia tipos I - II - III - IV
- *Pilosidad en la 2ª falange de las manos.
- *Poliposis múltiples.
- *Poliposis maligna de colon.
- *Poroqueratosis.
- *Porfiria intermitente aguda.
- *Porfiria variegata.
- *Prolapso válvula mitral.
- *Protoporfiria eritrohepática.
- *Pulgar trifalángico.
- *Púrpura trombocitopénica (unas variedades)
- *Queratodermia palmoplantar.
- *Queratosis folicular.

- *Quistes sebaceos múltiples.
- *Retinitis pigmentosa sin sordera.
- *Retinoblastoma (v)
- *Riñón poliquístico.
- *Síndrome de Apert-Crouzon).
- *Síndrome de Cornelia de Lange.
- *Síndrome de Ehlers-Danlos (tipos I, II, III, y IV)
- *Síndrome de Gilbert.
- *Síndrome de Klippel-feil (tipo I)
- *Síndrome de Marfan (v)
- *Síndrome de Peuz.
- *Síndrome Stein Leventhal.
- *Sordera con hoyuelos preauriculares.
- *Sordera laberíntica.
- *Sordera varios tipos (v)
- *Subluxación del cristalino.
- *segmentaciones vertebrales (v)
- *Sindactilia tipos I, II, III, IV
- *Sinfalangia.
- *Sinóstosis falángicas
- *Sinostosis múltiples
- *Sinostosis radio-ulnar.
- *Telangiectasias hereditarias.
- *Tylosis palmoplantar.
- *Uñas gruesas.

- *Uñas ausentes.
 - *Uñas delgadas y quebradizas.
 - *Uñas lechosas.
 - *Urticaria al frio.
 - *Utero bífido(v)
 - *Vacuolización de los linfocitos.
 - *Vitíligo.
 - *Xantomatosis.
-

Debido a que el trabajo lo hemos hecho en Madrid, son pertinentes las siguientes consideraciones:

La modificación del Código Civil español, en materia de filiación, de 13 de mayo de 1981, por lo que desarrollando el artículo 39,2, en el que se permite la investigación de la paternidad dentro del matrimonio, en nuestra constitución de 1978, incluso "por medios biológicos", ha supuesto un verdadero "boom" tanto en la demanda de estas pruebas como en la expectación que las mismas han levantado, siendo un tema de televisión y de revistas más o menos serias.

Hasta entonces estas pruebas estaban limitadas al ámbito del Código Penal, para los casos de violaciones y estupros, así realizamos, en la Escuela de medicina Legal, alrededor de 4 o 5 todos los años.

Algunas veces maridos celosos (preferentemente alcohólicos y algún paranoide) venían al laboratorio para comprobar la fidelidad de su esposa, que en la mayoría de los casos se prestaban gustosas a ver si así les convencían de su inocencia. Siempre el análisis quedaba entre ellos, sobre todo porque era favorable a la esposa, pero no hubiesen tenido virtualidad, en caso de exclusión por tenerlo vedado en el Código. Esto era una reminiscencia del código Napoleónico, en el que tras formar tres comisiones ante el emperador y las tres ir en contra de sus designios, zanjó la cuestión por el expeditivo: "estos hijos no interesan al imperio".

Al lado de los beneficios que ha reportado a los antaño hijos naturales y a los legítimos, esta Ley, está teniendo algunas malas consecuencias: vemos con demasiada frecuencia las malas artes de alguna joven que haciendo vida promiscua con varios amigos a los que aseguraba que tomaba la píldora, premeditadamente se quedó embarazada del que tenía más dinero, que se enteró a los 4 años por carta cuando ya estaba casado, chantajeándole para que no se enterase la esposa. En más de un caso la demanda se ha puesto en vísperas del viaje de novios, por la antigua y fugaz compañera. En un caso un hombre de más de 80 años ha sido demandado por su hija natural, sabedora por su madre, largo tiempo ya fallecida, que quedó embarazada en unas fiestas del pueblo, 60 años antes, por aquel muchacho (hoy de más de 80 años) que acudió en un permiso del servicio militar a pasar las fiestas del pueblo y con el que se acostó bajo los efectos del alcohol. Más de una vez la mujer ha ido trayendo a uno tras otro de sus "conocidos" para ver cual de cual de ellos es el hijo.

Revisados los archivos de la escuela de Medicina Legal no encontramos ninguna investigación de paternidad con padre ya fallecido, si no mediaba dinero por medio; la mayoría de las veces muchos millones de pesetas.

Se ha dado el caso de una buena esposa que tuvo un desliz efímero con un conocido, que resultó ser el clásico don Juan, y que confesando el pecado al esposo, provocó en ambos serios episodios de depresión que se prolongaron años. Cabía la posibilidad que si hubiésemos accedido a los deseos del marido y se hubiese demostrado la exclusión de la paternidad, el pillo en cuestión se enterase (al estar la noticia difundida entre las amistades), y tratándose de un pobre diablo sin medios de fortuna y vida de ostentación, se hubiese interferido en el matrimonio reclamando "su paternidad" con el mismo derecho que una mujer reclama la del varón que quiere desentenderse del hijo que engendró.

En múltiples ocasiones un padre quiere enterarse si un hijo es suyo, a espaldas de la esposa, y el análisis solo rinde frutos por homocigosis contraria (en caso de exclusión): el padre indefectiblemente quiere a ese hijo y no quiere verse privado de él, pero quiere aclarar la duda que le atormenta. Fácilmente se comprendería el quebranto que a ese padre legal y al hijo se le causaría si habiendo exclusión, un desaprensivo hace valer sus derechos sobre ese hijo.

Tenemos registrados varios casos de matrimonios que marchaban y han sido destruidos por los resultados de una prueba pedida por una mujer con la que el esposo solo tuvo fugaz contacto varios años antes de casarse.

Hay algún caso cómico: un hombre de unos 50 años es demandado por una mujer de otros tantos, como padre de la niña (ya no tanto, cuando vino al análisis tenía 29 años) que engendró 30 años antes mientras entró a servir en casa de aquel joven. El análisis no excluyó al hombre, y al entregarle los resultados mostró casi una sonrisa feliz "no es mía, es de mi padre, que tiene 80 años y se acostaba con aquella mujer mientras duró en casa". Al decirle que al estar implicado el padre, que desconocíamos, el análisis carecía de valor pues la comparación la habíamos hecho con el "ciudadano medio", y el podía haber heredado del padre todos los genes de "obligada procedencia paterna que portaba la joven", nos contestó que era mejor dejar las cosas como estaban y no analizar a su padre, pues "así la chica es hija mía y heredaré, si puede, dentro de muchos años, repartiendo lo que haya con mis hijos, pero si resulta que es hija de mi padre (en lo que estaba seguro), se convierte en hermana mía y con derecho a la mitad de la fortuna de mi padre que ya no puede durar mucho".

Se puede afirmar que en muchos casos la Ley esta produciendo mayores quebrantos que beneficios.

Se ha calculado que en USA hay todos los años más de 650.000 nuevos hijos ilegítimos y que el coste social de mantenimiento, supone 13.000 millones de dólares (32), siendo analizados oficialmente más de 26.000 casos al año (33). La capacidad de los laboratorios USA es : número de laboratorios que se dedican a estas pruebas 235; de ellos solo 95 hacen HLA, si bien solo unos pocos acaparan la mayoría de los casos (el de Terasaki unos 3.000 y el de Polesky algo más, por ejemplo) (3).

En un país tan pequeño como Dinamarca, pero de tanta tradición en este campo, confesaba Henningsen (35) que nacían cada año unos 10.000 niños fuera del matrimonio, que se hacían unas 2.000 pruebas al año. En España estamos aun muy lejos de esto.

Aunque en España no hay nada legislado, convendría delimitar las condiciones que debe reunir un perito en estas pruebas: como ejemplo mencionaremos a PROKOP (36) que dice que en alemania para ser aceptado como Perito hace falta haber trabajado durante 5 años con un Perito ya reconocido oficialmente, tener un profundo conocimiento de la serología y genética de los sistemas de grupos sanguíneos y demás polimorfismos que emplee; publicación de trabajos propios y un examen ante una comisión ministerial. No menos exigente se muestran WIENER y WEXLER (37) en USA, y así en todos los países. España es diferente.

Ya dijimos que para ser Perito de grado superior hacia falta, profundos conocimientos de genética y antropología.

Es una estafa, hoy día, ofrecer los servicios en una demanda de este tipo, si las probabilidades de exclusión "a priori", por la batería de pruebas que empleamos, no son del 90% para un hombre inocente.

En el siguiente ejemplo de LEE (36) puede verse como según la capacidad científico-técnica de un laboratorio u otro, varía considerablemente las probabilidades de exclusión que ofrecen, haciendo los sistemas de grupos sanguíneos:

LABORATORIO	ABO	MNSs	Rh	CHANCE DE EXCLUSION
Nº1	A, B.	M, N	D	0,33 (33%)
Nº 2	A1, A2, B	M, N, S	D, C, c, E	0,547 (55%)
Nº 3	A1, A2, B	M, N, S, s	D, C, C ^W , c, E, e	0,614 (61,4%)

Es tal el desconocimiento de estos autores, que un centro oficial catapultado por decreto para hacer estos peritajes, incluía en su propaganda impresa los grupos Diego, entre los que analizaría al cliente: Para las autoridades españolas debemos estar infectados de indios sudamericanos o de mongoles (de mongólicos quizás sí).

Hace falta un toque de atención para los que se dediquen a estas pruebas: es preciso realizar los test con controles positivos y negativos de paneles de total garantía. Además las técnicas se realizaran siguiendo las indicaciones del fabricante del antisuero que empleemos. En muchos antisueros van incluidos medios reforzantes que no funcionan bien con la técnica standar.

La investigación de paternidad consta de dos partes bien diferenciadas: estudio de la posible exclusión, y cálculo de las probabilidades de paternidad, en los casos en que la exclusión no se obtuvo.

REALIZACION DE UN ESTUDIO DE PATERNIDAD

La toma de muestras para la realización de una prueba consiste en la extracción de sangre mediante punción venosa, como si se tratase de un análisis clínico aunque la cantidad sea algo mayor, siempre dependiendo de la edad de los niños a los que se le somete a la prueba. Además se les somete a un somero historial clínico. En algunos casos se realizan fotos y se toman huellas dactilares con carácter identificador de los individuos.

La toma de muestras también es el momento para observar aquellos posibles rasgos morfológicos inusuales que pueden ser útiles en el estudio, caracteres como el mechón de pelo blanco, braquidactilia, enanismo, mandíbula estrecha y dirigida hacia abajo (mandíbula de los Habsburgo, que podemos contemplar en los cuadros históricos del emperador Maximiliano, abuelo de nuestro emperador Carlos I hasta Alfonso XIII)... Estos rasgos tiene casi rango de marcador genético pero raramente se cuenta con ellos.

ESTUDIO DE LOS MARCADORES GENETICOS

-Antígenos de membrana (eritrocitos) los grupos sanguíneos se basan en pruebas de aglutinación de la sangre sometida a distintos antisueros, para los que se debe tener un amplio surtido de distintas procedencias, además hay que tener la precaución de incluir en estas pruebas controles de glóbulos rojos positivos y negativos para el antisuero empleado.

Hoy en día se emplean unos 10 sistemas de grupos sanguíneos que se heredan independientemente unos de otros.

- HLA (Human Leucocyte Antigen): A partir de los años 60 con el auge de los trasplantes de órganos se desarrolló el estudio de los llamados grupos leucocitarios. En los glóbulos blancos (en realidad en todas las células de nuestro organismo) se encuentran una variedad ingente de antígenos, las combinaciones posibles de ellos serían millones. El estudio de los antígenos del sistema HLA se realiza sobre linfocitos a los que se les enfrenta con antisueros específicos, algunos comerciales y otros obtenidos a través de donantes voluntarios y embarazadas sensibilizadas cuando sus hijos son incompatibles. Estos antisueros provocan en la membrana del linfocito una lisis que mediante una tinción especial hace que puedan mostrarse visibles las reacciones positivas.

No obstante, la gran variedad de antisueros necesarios para poder realizar un tipaje correcto ante la gran variedad de antígenos existentes ha hecho necesaria la aparición de una Asociación Mundial de especialistas en HLA para el intercambio de antisueros que no posean las casas comerciales.

-Proteínas séricas y enzimas intraeritrocitarias (suero y hematíes): Estos marcadores genéticos son proteínas y se identifican en función de su carga eléctrica. Las proteínas tienen cargas eléctricas en función de sus componentes primarios que son los aminoácidos. Para identificarlos se emplean dos tipos de técnicas: electroforesis y electroenfoque. Dos proteínas iguales pero con distinta carga se separarán en un campo eléctrico, esta separación se realizará según un modelo conocido como "patrón de bandas". según el patrón de movilidad, así sería clasificada dicha persona para ese marcador.

Una vez identificados y tipados todos los marcadores a estudiar, se procede a la interpretación de los resultados.

La investigación de la paternidad tiene 2 aspectos:

- a) Estudio de la posible exclusión.
- b) Cálculo de las probabilidades de paternidad en los casos en los que no haya exclusión

REGLAS PARA LA EXCLUSION DE LA PATERNIDAD

Debido a que los grupos sanguíneos (y el resto de los marcadores usados en estas pruebas) se heredan siguiendo las Leyes de MENDEL, fácilmente se comprenderá que son adecuados para emplearse en problemas de identidad: por ejemplo los casos de dudosa paternidad: hay tres reglas principales de exclusión:

1ª regla o exclusión clásica

Un gen de grupo sanguíneo no puede aparecer en un niño a menos que este presente en uno o ambos progenitores.

Esta regla es de gran confianza y solo se opondría a su validez, casi absoluta, la mutación. La mutación tiene una tasa teórica del 1:100.000 (39), pero en grupos sanguíneos debe ser más baja aún pues no se ha detectado ninguna en los, quizá más de un millón, de peritajes realizados.

Si una madre es del grupo "A" su hijo del grupo "B" y el presunto padre del grupo "O", automáticamente queda excluido, ya que la madre forzosamente es "AO" y solo se le ha podido transmitir el gen "O" al hijo, cuyo genotipo será "BO", pero el gen "B" no le ha podido venir del acusado que es "O" (genotipo "OO").

La misma exclusión, por primera regla, ocurriría si el niño es Rh positivo y su madre y el acusado Rh negativos.

2ª regla o de la homocigosis contraria

Ocurre cuando entre el niño y su supuesto padre se detecta una homocigosis de signo opuesto: contrarios en algún sistema de marcadores.

Por ejemplo: dentro del sistema MN, las personas quedan diferenciadas en los siguientes grupos: MM, MN y NN.

Habría exclusión de paternidad por segunda regla si el presunto padre en la prueba serológica de aglutinación ha dado positivo con el antisuero anti-M y negativo con el anti-N, mientras que el niño le ha ocurrido lo inverso. Del resultado de tal prueba serológica hemos dado un salto y hemos deducido el genotipo de ambos: MM el acusado y NN el niño. Esto sería cierto si en el mismo sistema MN solo hubiese dos alelos para ocupar el locus MN, pero sucede que hay otros alelos de frecuencia muy baja, como el Mg (frecuencia de 1:60.000) o el Mk, que podrían trastocar nuestras hipótesis, y el niño ser M^gN y el padre MM^g. Entonces lejos de excluir la paternidad quedaría probada, pues la probabilidad que otro hombre M^g hubiese tenido acceso carnal con aquella mujer, al tiempo de la concepción del niño, resulta remotísimo.

Para aclarar estos casos haría falta reactivo adecuados para poner en evidencia esos posibles alelos que pueden estar escondidos al análisis corriente, y eso, muchas veces, no es viable.

No obstante, en algunos sistemas de grupo sanguíneo hay un efecto de dosis: por ejemplo los hematíes MM son más fuertemente aglutinados por los sueros anti-M que los hematíes MN, que tienen la mitad de dosis. Esto también ocurre en el Rh, concretamente por el alelo "C" y "c", y en algún otro.

Podemos sospechar que nos encontramos ante una "media" dosis, y por lo tanto que puede estar escondido un alelo infrecuente, realizando la prueba de aglutinación contra diluciones de antisuero y midiendo los scores, lo que expondremos más adelante.

Un Perito consciente es reacio a sentar un diagnóstico de exclusión de paternidad fundándose, exclusivamente, en una única exclusión de segunda regla.

Ocurre frecuentemente en el sistema Duffy, y debido a que entre los caucásicos el gen o alelo Fy ocurre con una frecuencia del 0,01 (1%), no debemos sentar una exclusión si el presunto padre es Fy^a (+) Fy^a (-) y el niño Fy^a (-) Fy^b (+), pues lejos de ser Fy^a, Fy^a y Fy^b Fy^b pueden tener ambos el Fy.

Con reactivos seguros y técnicas sólidas, con un panel de testigos adecuados, una exclusión por segunda regla es cierta en casi el 99% de las ocasiones.

Prueba discriminativa de la homocigosis

DILUCIONES DEL ANTISUERO								Antisuero	Score
Hematies	1	1:2	1:3	1:4	1:8	1:16	1:32	anti-C	
MADRE(Cc)	4+ (10)	3+ (8)	2+ (5)	1+ (30)	w (1)	--	--	anti-C	27
NIÑO (C/?)	4+ (10)	4+ (10)	3+ (8)	2+ (5)	2+ (5)	1+ (3)	--	anti-C	41
Control CC	4+ (10)	3+ (8)	3+ (8)	2+ (5)	2+ (5)	1+ (3)		anti-C	39
MADRE.Cc	4+ (10)	3+ (8)	2+ (5)	1+ (3)	1+ (3)			anti-c	29
P.P. (c/?)	4+ (10)	4+ (10)	4+ (10)	3+ (8)	3+ (8)	2+ (5)	1+ (3)	anti-c	54
Control cc	4+ (10)	4+ (10)	3+ (8)	3+ (8)	2+ (5)	2+ (5)	1+ (3)	anti-c	49

En este caso se podía confiar en la exclusión por segunda regla (homocigosis contraria: el segundo padre es cc y el niño CC) ya que la prueba serológica habitual se ha completado con la medición de scores que nos han dado más seguridad en la homocigosis CC del niño. Por desgracia en el sistema ABO, y muchos otros, no funciona el efecto de "dosis", y la misma potencia de aglutinación se obtiene con los hematíes "AA" que con los "AO" por ejemplo.

3ª regla de exclusión

Se da en aquellos sistemas muy polimórficos, como el HLA, en que una exclusión de confianza puede sentarse en las personas que tiene "toda la casa ocupada", es decir en aquellos en los que se expresan dos alelos para el locus A y dos alelos para el B, y entre el niño y el presunto padre hay falta de adecuación:

Supongamos que el alelo "A" que la madre es A1, A2, el niño A1 A3 y el presunto padre A23 A29. En este caso además de la exclusión por primera regla al parecer el gen A3 en el niño del que carecen tanto la madre como el presunto padre, hay exclusión por tercera regla, ya que bien el A23 ó el A29 obligadamente deberían aparecer en el niño.

La validez de la primera y tercera regla es prácticamente absoluta mientras que la de la segunda solo debe admitirse con ciertas reservas.

Precauciones en estos tipos de análisis

Dentro del sistema ABO es imperdonable un fallo. Ocurre como en las transfusiones: dar a un enfermo del grupo "B" sangre del grupo "A", conduce a lo que en el lenguaje forense americano se encuadra dentro de la frase lapidaria "Res ipsa loquitur". Los hechos hablan por si solos. No cabe excusas. Caso distinto sería el que entre una primera y segunda transfusión se hubiese elevado el dintel de un anticuerpo que estaba en título subumbral, en sistemas solo detectables por la prueba de la antiglobulina etc.

La herencia del sistema ABO esta bien diluciada, y precisamente el fenotipo Bombay (40), que pasaría por una violación de la primera regla, vino a aclarar como el gen actúa a través de una enzima para formar el antígeno. Sin que el gen falte en la persona que transmitió el fenotipo (ausente en él) a su vástago.

Muchos autores han hecho un esfuerzo en este campo, destacando a BOORMAN y colaboradores (41), a RACE y SANGER (42), a SALMON (43), POLESKI (49 y 50), SUSSMAN (51) y LEE (52).

Los pocos casos registrados de madre "AB" con niño "O" cuyo primer caso fue registrado por SEYFRUED (53) en 1964 se caracterizarán por lo debil del aglutinógeno "B" y cierta cantidad de anti-B en el suero. YAMAGUCHI (54) publica en 1965 otra familia y en total se han recogido unas doce familias, destacando los estudios de REVIRON (55) sobre ellas.

Un padre "O_h" con una mujer "O" tiene un hijo "B": este fue el caso típico para que LEVINE (56) descubriera el secreto del fenotipo BOMBAY. Ese hombre era "B" pero fallaba en poder demostrar el antígeno "B" en sus hematíes, aunque pudo transmitir el gen "B" a su descendiente que sí lo expresó al no faltarle la enzima (ya que no era homocigótico "hh"). Como es natural no se trata de una mutación, y serológicamente se descubre porque los hematíes aparentan ser del grupo "O" pero en el suero hay una potente aglutinina anti-H que aglutina todas las sangres menos las Bombay.

Si no se tiene la precaución de testar las pruebas con suero anti-AB, y en el test inverso emplear hematíes A1, A2, B y O nos exponemos a un disgusto. Así no pasarían desapercibidos los subgrupos débiles del "A" y los Bombay.

No debemos insistir en lo inútil que resulta en estudios de paternidad querer adivinar el genotipo ABO, por ejemplo en caso de un a madre "O" un hijo "O" y un progenitor "A". que como es natural se le excluiría si su genotipo fuese AA, pero no si fuera AO. Las investigaciones experimentales indicadas por FILITTI WURMSER (57, 58) en la década de los cincuenta, y seguidas por SALMON (59, 65) y por CARTON (66 a 70) sobre estudios termodinámicos para distinguir el genotipo ABO, no tienen cabida en la práctica de una investigación de paternidad.

Ya hemos repetido muchas veces las trampas que un alelo raro (M⁹) puede tender a un inexperto en casos de exclusión por homocigosis contraria.

El sistema Rh es rico en la variabilidad con que al Perito se le ofrecen las ocasiones de demostrar su sagacidad: una vez hay que hacer dictámenes ampliados para a través de los fenotipos de los abuelos o hermanos deducir la composición genética del presunto padre en una paternidad en litigio.

Supongamos una MADRE : CDe (genotipo más común CDe/CDe)

un niño: CcDe (lo corriente Cde/cde)

acusado: CcDEe (común CDe/cDE quedando excluido)

Solo, en el caso que la fórmula genotípica del acusado fuera CDE/cde o bien CDE/cDe, no quedaría excluido. Aquí nos encontramos con dos posibilidades, o bien recurrir a los rarísimos antisueros anti-ce y anti-Ce, que serían positivos solo cuando en un haplotipo van juntos el "ce" o el "Ce". En España, que carecemos de estos antisueros, acudimos a los estudios familiares: si el presunto padre tiene uno de sus progenitores Rh negativo (cde/cde) su fórmula sería CDE/cde y por lo tanto lejos de ser excluido de su paternidad sobre el niño quedaría señalado como muy probable padre..

Es muy bello el caso registrado por PROKOP (71):

*Madre: CcDe

*Hijo: CcEe

*Acusado: CcDEe

*Sospechoso 1º: cDEe

Sospechoso 2º: cDE

Un Perito poco experto diría: al tener el niño el factor "E" que no lo tiene su madre, le tiene que venir de su padre. Como los tres implicados lo tiene ninguno puede ser excluido.

Para un Perito preparado no puede pasar desapercibido la rara fórmula del niño cuyo genotipo solo puede ser: Cde/cdE o bien el rarísimo CdE/cde.

Como la madre le puede dar Cde (si el genotipo es Cde/cDe) o bien cde (si el genotipo materno fuera CDe/cde), no sabemos, si no ampliamos el dictamen, qué le ha podido transmitir. En efecto los abuelos maternos fueron cDe (cDe/cde) y Cce (Cde/cde), por lo que quedó aclarado que la madre solo le podía transmitir Cde.

De este modo quedó descartado el genotipo más raro en el niño (el CdE/cde) y se llegó a la conclusión que el haplotipo paterno en el niño era el "cdE".

Los padres y hermanos del acusado demostraron que este era del común CDe/cDE quedando excluido como padre.

El estudio de la familia del 1º sospechosos obligaba a que el primer sospechosos era cDE/cde, quedando descartado.

Tanto una hermana como la madre del 2º sospechoso tenían por fenotipo cEe (cdE/cde), por lo que su genotipo era cDE/cdE (equivocado en la traducción al castellano del libro) y por lo tanto tenía un 50% de probabilidades de transmitir el cdE al niño, es decir más de 50 veces las probabilidades de un hombre,, al azar., que unido al resto de los grupos daba un índice de certeza del 99, 98% como padre biológico del niño.

Dentro del Rh debe ser tenido en cuenta en una exclusión de "segundo orden" el fenotipo -D-, pero las células rojas de estas personas son aglutinadas en solución salina por un suero incompleto anti-D, sin necesidad de adición de albúmina.

El uso de antisueros raros (C^w) es útil: hemos tenido el caso de un presunto padre Cw y un niño Cw que nos puso en guardia de una falsa exclusión por el HLA (hubo reacción cruzada B35 y Bw50). Era muy raro que un antígeno con frecuencia menor del 1% apareciese en el acusado y niño sin haber relación de parentesco.

El sistema Kell es bastante seguro y una exclusión por primera regla con un niño "K" y madre y acusado "kk", es de base muy sólida.

En el DUFFY hemos tenido bastantes pegas: aunque en los negros el gen mudo "Fy" tiene una frecuencia altísima, en los blancos no es del todo despreciable (0,01) por lo que una exclusión por segunda regla debe ponernos en alerta. Hemos tenido dos casos de estos, que si el valor de Essen Möller por el resto de los sistemas no nos hubiese puesto en guardia hubiésemos tenido una falsa exclusión.

En el sistema KIDD no debe olvidarse el alelo mudo, aunque menos frecuente que en el caso Duffy.

Es sorprendente como autores de la talla de LEE usan el sistema LEWIS en estudios de paternidad. Solo es segura la herencia del sistema secretor a través de la saliva, que debe sustituirlo. Los cruces de progenitores "no secretor" por "no secretor" son del 5%, y si el niño es "Secretor" quedaría excluido.

El sistema P solo es seguro si el niño es P1 (+) claramente y los adultos P1 (-). CONTRERAS y TIPPETT hallaron una familia hace 11 años en que de un cruce P2xP2 nació un niño P1 (73). Se pudo aclarar que el fallo en la herencia se debía al efecto inhibidor del gen Lutheran sobre el locus "P", pues los adultos resultaron ser Lu (a- b-).

Sucede, a veces, que el presunto padre o la madre se niegan a una segunda extracción para aumentar en número de marcadores a estudiar. En un caso reciente el HLA rendía prácticamente nada, por lo que las probabilidades de paternidad con el resto de los sistemas ascendían a poco más del 99%. Los fenotipos eran los siguientes:

***Presunto padre:** A2 Aw24 / Bw35 Bw 61

***Madre:** A1 A11 / Bw35 Bw44

***Niño:** A2 A11 / Bw35/ Bw44

Al negarse el presunto padre a una nueva extracción para aumentar el rendimiento (cosa que en modo alguno deseaba) recurrimos a estudiar dos hijos de esa mujer con otro hombre anterior. De este estudio se dedujo que el haplotipo materno era A11 Bw44 y por lo tanto que el paterno era A2Bw35, rindiendo el HLA, por este detalle, mucho más, y pudiéndose alcanzar el dintel del 99, 75 % de probabilidades de paternidad, con lo que el caso quedó aclarado.

Los estudios de ALLEN sobre los genes silentes o mudos en los distintos sistemas (ref. 45) del año 1976 han sido superados por POLENSKI en el año 1983 (74) cuya lista es:

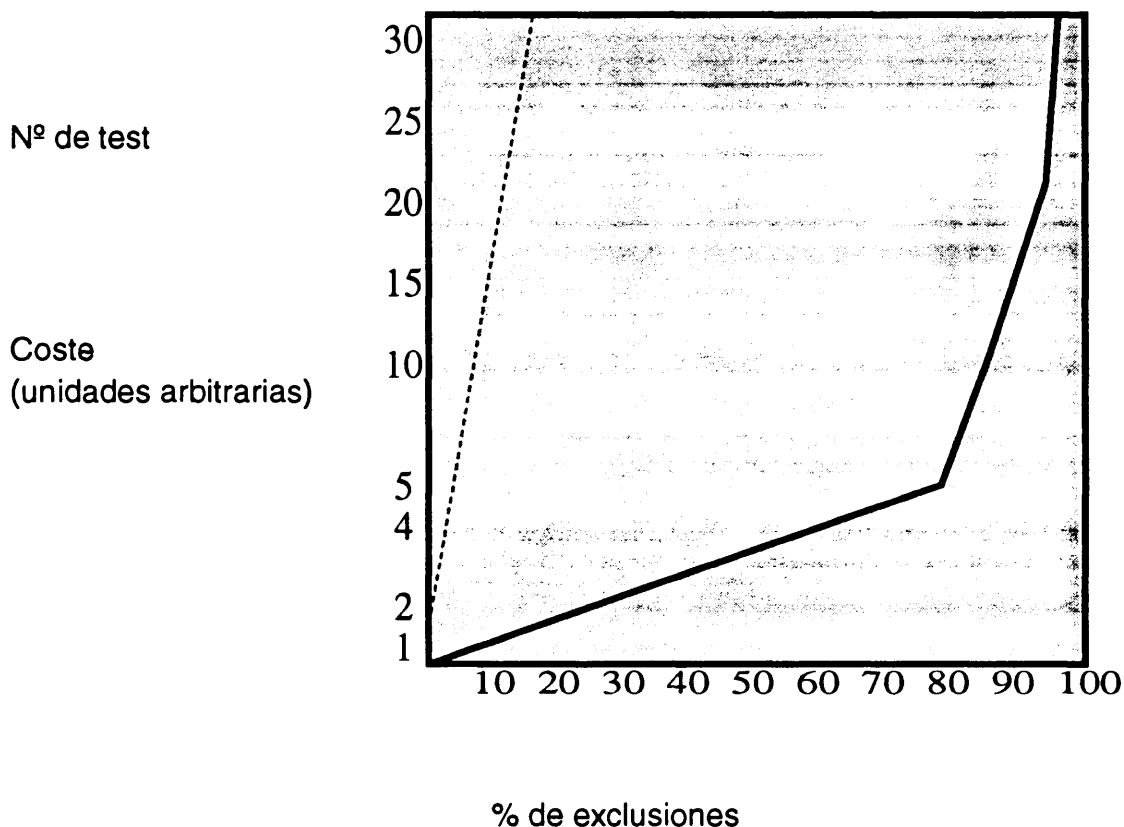
FRECUENCIA GENICA DE LOS ALELOS MUDOS

Sistema	% de mudos maternos	% id paternas
Rh	0.06%	0,08 %
MNSs	0,01	0.15
Kell	0,22	0,00
Duffy	0,44	0,49
Kidd	0,04	0,13
AcP	0,23	0,34
EsD	0,08	0,06
GLO	0,08	0,10
PGM ₁	0,11	0,09
Gm	0,04	0,012
Bf	0,09	0,08
Gc	0,00	0,00
Hp	0,08	0,13
Tf	0,12	0,00
PLG	0,39	0,13

Todo ello nos debe llevar a extremar las precauciones.

No obstante un Perito sagaz y con mucha experiencia es capaz de "ver" la silencia en la placa electroforética por la menor cantidad de banda teñida comparada a la que debería llevar el homocigote.

WIENER, con su insuperable experiencia, diseñó las probabilidades de error en que se vería envuelto un perito al aumentar el número de marcadores utilizados (75). En la misma curva incluía el chance de excluir la paternidad y la relacionaba con el número de test distintos y su coste.



La línea continua son las probabilidades de exclusión
La línea de puntos son las posibilidades de error técnico

Vemos en la curva exponencial como nunca se puede alcanzar el 100% de exclusión, y como con el incremento del número de test va subiendo la posibilidad de cometer errores.

Si un perito aceptable tiene un chance de cometer errores en una de cada 200 pruebas, al hacer 30 pruebas casi el 12% de los peritajes tendrán la posibilidad de, al menos, un error.

Esto es muy serio, y por lo tanto solo se deben acometer en la investigación aquellos sistemas para los que se tienen una gran experiencia.

¿Como se deducen las probabilidades de exclusión?

El caso más sencillo es el de un sistema con dos alelos, para el cual solo disponemos de un antisuero: por ejemplo en el sistema KELL disponemos del anti-K.

La única probabilidad de exclusión ocurrirá en el evento de que tanto la madre como el acusado sean Kell negativos y el niño Kell positivo.

El suceso mujer Kell negativa y acusado negativo es la multiplicación de las frecuencias fenotípicas de los kell negativos es decir= 0,8294.

Solo el niño K+ es excluido y el suceso de un espermatozoo K+ fecundando a su madre K (-) es la frecuencia génica del alelo Kell es decir el 0,0457.

Por lo tanto la combinación de tales dos sucesos será igual a 0,8294 x 0,0379 (3,79%) de las parejas en las que el acusado sea inocente.

Este cálculo se hace en aquellos sistemas con un alelo silente: por ejemplo en el Rh.

Para estos casos WIENER dedujo fórmulas (76 y 77) en las que llamando "d" al gen dominante y "r" al recesivo, la probabilidad de exclusión sería:

$$d r^4$$

Si en el Rh el gen "D" tiene una frecuencia de 0,6y el "d" (r) una del 0,4 la fórmula sería:

$$0,6 \times 0,4^4 = 0,01536 \text{ (solo se excluye al 1,5\%).}$$

Cuando en un sistema de dos alelos se dispone de antisuero para ambos antígenos, como ocurre en el sistema MN, las fórmulas son distintas:

Si llamamos M y N a los antígenos y "m" "n" a los genes:

Tipo sanguíneo acusado inocente	Posibilidades de excluirlo de la paternidad
M	n (1-mn)
N	m (1-mn)
MN	0
Indeterminado	mn (1-mn)

La fórmula últimamente dada: mn (1-mn), adquiere la posibilidad máxima para excluir si la frecuencia de ambos genes es de 0,5. Entonces, en esa población con esas frecuencias génicas, las posibilidades que tendría un hombre inocente en ser excluido, solamente usando el sistema MN, sería de 18,75 %.

Cuando se trata de un sistema de tres alelos las cosas se complican, y fueron resueltas magistralmente por WIENER en "advances in Blood Grouping III" (78)

Sean los tres genes "R" "S" y "T", cuyas frecuencias son respectivamente "r" "s" y "t". Los tipos sanguíneos serán: RR, SS, TT, RS, RT y ST. (aunque al tipo RR le llamaremos R etc.).

Las frecuencias de las combinaciones madre-hijo serán las siguientes:

Tipo madre	Tipo del hijo					
	R	S	T	RS	RT	ST
R	r^3	0	0	r^2s	r^2t	0
S	0	s^3	0	rs^2	0	s^2t
T	0	0	t^3	0	rt^2	st^2
RS	r^2s	rs^2	0	$rs(r+s)$	rst	rst
RT	r^2t	0	r^2t	rts	$rt(r+t)$	rst
ST	0	s^2t	st^2	rst	rst	$st(s+t)$

A continuación tomaremos en cuenta aquellas combinaciones en las que hay exclusión de paternidad sin tener que tomar en cuenta a la madre.

Tipo del presunto padre	tipo del niño	frecuencia de exclusión
R	S, T ó St	$r^2 (s+t)^2$
S	R, T ó RT	$s^2 (r+t)^2$
T	R, S ó RS	$t^2 (r+s)^2$
RS	T	$2rst^2$
RT	S	$2rs^2t$
ST	R	$2r^2st$

TOTAL..... $2 (r^2 s^2 + r^2 t^2 + s^2 t^2) + 4rst$

Finalmente tabularemos aquellas combinaciones para excluir la paternidad cuando SI es necesario el análisis de la madre.

TIPO P. PADRE	Tipo madre e hijo	Frecuencia exclusión
R	$\left[\begin{array}{l} R---RS \text{ ó } RT \\ RS---RT \\ RT---RS \end{array} \right.$	$r^4 (1-r)$ $2r^3st$
S	$\left[\begin{array}{l} S---RS \text{ ó } ST \\ RS---ST \\ ST---RS \end{array} \right.$	$s^4 (1-s)$ $2rs^3t$
T	$\left[\begin{array}{l} T---RT \text{ ó } ST \\ RT---ST \\ ST---RT \end{array} \right.$	$t^4 (1-t)$ $2rst^3$
RS	$\left[\begin{array}{l} R-RT \\ T-ST \\ RT---RS \text{ ó } ST \end{array} \right.$	$2rst(r+t)^2$
RT	$\left[\begin{array}{l} R - RS \\ T - ST \\ RT - RS \text{ ó } ST \end{array} \right.$	$2rst (r + t)$
ST	$\left[\begin{array}{l} S---RS \\ T---RT \\ ST---RS \text{ ó } RT \end{array} \right.$	$2rst (s+t)$
COMBINADAS.....		$(r^4 + s^4 + t^4) - (r^5 + s^5 + t^5) +$ $+2rst + 4rst (r^2 + s^2 + t^2)$

La combinación de la tabla anterior y de esta última da el total de las posibilidades de exclusión de paternidad por un sistema de tres alelos:

$$(r^2 + s^2 + t^2) - (r^5 + s^5 + t^5) + 6rst + 4rst (r^2 + s^2 + t^2)$$

El máximo valor (37% de exclusión) es cuando los alelos son iguales.

En el sistema ABO con tres alelos, WIENER (79) derivó formulas para hallar el chance de exclusión:

Grupo de sangre de hombre inocente	Oportunidad de excluir su paternidad
AB	r^2
A	$q(p + r)^2$
O	$r^2(p + q) + 2pq(1 + r)$
indeterminado	$p(q + r)^4 + q(p + r)^4 + pqr^2(p + q) + 2pqr^2$

Con estas fórmulas la máxima posibilidad de exclusión ocurrirá en aquellos países donde las frecuencias de los alelos sea la siguiente:

$$p = 0,22 \quad q = 0,22 \quad y \quad r = 0,557$$

En España y usando los subgrupos del A, las oportunidades que un hombre inocente tiene de demostrar su inocencia haciendo solo los grupos ABO es del 18% aproximadamente.

Cuando se combinan en el estudio varios sistemas de grupo sanguíneo, como es natural, sus resultados no se suman sino que se van combinando.

Si con un sistema se excluye al 40% de los hombres, con el siguiente sistema a otro 40% y con un tercer sistema al 30%, no se excluirá al 110% de los hombres, sino que combinan sus resultados de la siguiente manera:

*Por el primer sistema queda excluido el 40%.

*Del 60% de hombres que quedan, excluimos al 40% de ellos por el segundo sistema.

*Este 24 % se suma al 40% excluido por el primer sistema y entre los dos sumaran $40 + 24 = 64$ % de excluidos (en vez del 80%).

Quedan aún sin excluir $100 - 64 =$ el 36%.

Por el tercer sistema excluirémos al 30% de ese 36%, lo que significa 0,108 (el 10,8%)

Sumando todo tendremos: $40\% + 24\% + 10,8\% = 74,8\%$

Es decir nunca se puede llegar a excluir al 100%.

Veamos seguidamente el proceder de exclusión en sistemas donde del fenotipo se deduce claramente el genotipo:

CALCULO DE LAS PROBABILIDADES DE EXCLUSION

Para ello es preciso hacer todos los cruzamientos posibles y calcular el porcentaje de niños excluidos.

Previamente se parte de las frecuencias génicas y fenotípicas:

Ejemplo: Probabilidades de exclusión con las Haptoglobinas.

(frecuencias inglesas)

frecuencias génicas

$$Hp^1 = 0,3854$$

$$Hp^2 = 0,6146$$

frecuencias fenotípicas

$$Hp\ 1 - 1 = 0,1485$$

$$Hp\ 2 - 1 = 0,4738$$

$$Hp\ 2 - 2 = 0,3777$$

crucos Madre	posibles padres	Niño excluido	Frecuencia del suceso	Prob de excl.
1-1	1-1	2-1	$(Hp1-1)(Hp1-1)Hp^2$	0,0136
1-1	2-1	ninguno		
1-1	2-2	1-1	$(Hp1-1)(Hp2-2)Hp^1$	0,216
2-1	1-1	2-2	$(Hp2-1)(Hp1-1)Hp^{2/2}$	0,216
2-1	2-2	ninguno		
2-1	2-2	1-1	$(Hp2-1)(Hp2-2)Hp^{1/2}$	0,0345
2-2	1-1	2-2	$(Hp2-2)(Hp1-1)Hp^2$	0,0345
2-2	2-1	ninguno		
2-2	2-2	2-1	$(Hp2-2)(Hp2-2)Hp^1$	0,0550
CAPACIDAD TOTAL DE EXCLUSION DE LAS Hp				0,1808

Como fácilmente se comprende quedan excluidos de la lista aquellos niños que muestren "madre imposible", como por ejemplo las homocigosis contrarias entre ambos.

En los casos en que la madre es heterocigota (2 - 1), las probabilidades del suceso deben dividirse por dos (0,5 casos favorables). Los P.Padres heterocigóticos no tienen exclusión.

CALCULO DE LAS PROBABILIDADES DE EXCLUSION ABREVIADO

Pongamos como ejemplo las Gc (frecuencias del Reino Unido)

frecuencias génicas

$$Gc^1 = 0,7274$$

$$Gc^2 = 0,2726$$

frecuencias fenotípicas

$$Gc\ 1 - 1 = 0,5291$$

$$Gc\ 2 - 1 = 0,3966$$

$$Gc\ 2 - 2 = 0,0743$$

CRUCES POSIBLES Madre p. padre		Niño excluido	probabilidad de exclusión
1-1	1-1	2-1	0,0763
2-2	2-2	2-1	0,0040
1-1	2-2	1-1	0,0286
2-2	1-1	2-2	0,0106
2-1	1-1	2-2	0,0285
2-1	2-2	1-1	0,0106
PROBABILIDADES TOTALES DE EXCLUSION			0,1586

En los sistemas donde los fenotipos se pueden deducir claramente los genotipos, el cálculo, de las probabilidades de presentación que tiene cada suceso, es nítido y sencillo.

Una cosa completamente diferente ocurre en aquellos sistemas donde, por existir genes mudos, no pueden decidirse el genotipo del resultado del análisis (ABO, Rh) o incluso en el sistema MNSs, donde ante un fenotipo M (+), N (+), S(+) s(+), no podemos saber si la combinación haplotípica es MS/Ns o bien Ms/NS.

La misma dificultad ocurriría en el sistema HLA.

La cosa se complica en los sistemas más útiles (HLA) debido a que aunque conociésemos los dos haplotipos, por estudios familiares, no estaríamos a salvo de un "entrecruzamiento"

La fórmula general combinada es $P^E = 1 - (1-x)(1-Y).....(1-Z)$

Todo lo dicho tiene un significado general, es decir: vale para ofrecer "a priori" unas posibilidades o chances de exclusión, según la Ley de los grandes números, a un inocente, falsamente acusado de padre, que viene a hacerse el análisis. Si la batería de test que usamos tiene un rendimiento del 99%, ello significa que el inocente tendrá unas probabilidades del 99% de demostrar su inocencia por el análisis.

Pero una vez que hemos comenzado el análisis el panorama puede cambiar drásticamente. Un hombre inocente que tenga grupos infrecuentes pronto sería excluido, pues debería tener muy mala suerte de que el padre "biológico" de aquel niño, le hubiese transmitido a aquel niño, exactamente esos marcadores raros que el tiene.

Por ejemplo, en el sistema ABO si la madre es "A" y el acusado inocente "B", no hace falta hacer el análisis al niño, pues nunca sería excluido como padre, ya que de la combinación A x B pueden originarse los 4 tipos de niños.

Si la madre es "AB" y el presunto padre "O" solo quedaría excluido si el niño fuese "AB".

En el caso que la madre sea "A" el presunto padre "B" y el niño "AB", el sistema ABO estaría dando un rendimiento excepcional, descartando como posibles padres al 90% de los hombres (solo podrían ser padres los que tuvieran el marcador "B", es decir los "B" y los "AB" en total, solamente un 10% de hombres).

Así como en el cálculo de las probabilidades de paternidad positiva (asignar como padre de un niño al acusado) nos fundamos en las frecuencias génicas, pues lo que traduce las probabilidades es el "obligado gen paterno" en el niño, en el cálculo de las probabilidades de exclusión nos fundamos en las personas (fenotipos). Es decir si la madre es "O" y el niño "A" quedan excluidos los que no tengan fenotipos "A" y "AB". Pero dentro de las personas A es totalmente distinto que sean AA ó AO, aunque no excluimos a ninguna de las dos como presunto padre. Pero las probabilidades de transmitir el gen "A" a ese niño "A" hijo de madre "O" será mucho más elevada para una persona "AA" que para una "AO". es decir estamos desaprovechando mucha información genética por desconocer el genotipo de ese hombre "A". Y en el caso que la madre "O" tuviera un hijo "O" y acusase a un hombre "A", no sería excluido como padre (podría ser "AO") pero si lo sería si hubiese modo de enterarnos que su genotipo era AA.

Supongamos el siguiente ejemplo tomado de un caso real:

Madre = "O" MM k Cc DEe Niño = A1 MN K CDe
 Acusado = A1Mn K CDe.
 P.P.

Si a los fenotipos le damos las siguientes frecuencias:

A1 = 31% N(es decir NN y MN) = 70%, K = 8,4% y C = 70%

El chance de que un hombre seleccionado al azar de entre la población lleve los 4 factores mencionados, será el producto de esas frecuencias = 0,01358.

En otras palabras, el chance de que un hombre inocente falsamente carezca al menos de uno de los 4 factores, y por lo tanto sea excluido será PE = 1-0,01358 = 0,9864 (98,64%)

Los juristas comprenden mejor los términos de porcentajes de hombres excluidos para hacerse una idea de las probabilidades de que el acusado sea el padre biológico. Así, por ejemplo, si en el informe decimos que el resultado de los análisis da como resultado que el acusado no ha sido excluido, y que se podrían excluir el 99% de los hombres como padres de ese niño, inmediatamente "se le enciende la lucecita" y dictaminan que el acusado es el padre. Sin embargo con este proceder estamos desaprovechando gran cantidad de información genética.

En el libro de SUSSMAN (80) WIENER publicó una fórmula a partir de la cual se calculan las probabilidades de paternidad si se conocen las probabilidades de exclusión:

$$W = \frac{PA}{PA + (1-PA)(1-PE)}$$

Y cuando las probabilidades a priori son neutras (50%), la fórmula se convierte en:

$$W = \frac{1}{2 - PE}$$

Esta fórmula fue duramente criticada en la reunión internacional de AIRLIE de 1983 (81) por CHAKRABORTY que propuso:

$$W = \frac{pL(Gf)}{(1-p) + pL(Gf)}$$

WIENER ya había muerto siete años antes y no pudo defenderse, pero tuvo el mejor de los defensores: el profesor C. C. LI que estaba de acuerdo con la fórmula de WIENER.

Método de la escuela inglesa

Dicho en pocas palabras este método solo requiere el producto de todos los fenotipos posibles (apropiados) para ser calculado:

Veamos el siguiente ejemplo:

Presunto padre:	"O" Ns, Cce, Lu ^b , Fy ^a , Gm ₁ , PGM ₁ , AcP (BA), Hp: 2-1, Gc: 2-1, GPT:1, ADA:1, AK:1, EsD: 1
Madre:	"O" MS, ce, Lu ^b , Fy ^a , Gm1 (-), PGM:1, Hp:1-1, AcP (BA), Gc: 1-1, GPT: 2-1, ADA: 1, EsD: 1, AK: 1
Niño:	"O" MNSs, Cce, Lu ^b , Fy ^a , Gm1(-), PGM:1, AcP (B), HP: 2-1 Gc: 2-1, GPT: 2-1, ADA: 1, EsD: 1, AK: 1

Podríamos razonar así: el niño tiene obligada procedencia paterna (ya que la madre no se lo puede dar) los siguientes genes:

"Ns", "Cde", Hp², Gc²

Además uno de cada 2 genes que porta el niño para "O", "PGM¹", "AcP^b", "ADA¹", "AK¹" y EsD¹" son de origen paterno al ser el niño homocigote para ellos.

Hay un escollo muy grande en este método: en el caso presente el gen "Cde" con una frecuencia del 1% es de origen paterno, pero no podemos sacar partido de él, pues aunque sabemos que existe con esa baja frecuencia no podemos excluir como padre de ese niño a un hombre C (+) ya que siendo Rh(+) no sabemos si su fórmula completa sera CDe/CDe o bien CDe/Cde, y en este último caso no sería excluido como padre. por ello se desperdicia cantidad de información y el rendimiento es muy pequeño: "Quedarán como posibles padres todos los hombres C(+)". La cosa tiene una importancia enorme ya que como los C(+) son el 70% de los hombres, casi (67%), los excluidos solo serían el 33% de los hombres en vez del 99% si supiéramos por el fenotipo si un hombre CDe, es CDe/CDe o bien CDe/Cde.

Nuevamente aquí surge lo interesante del dictamen "ampliado" de paternidad que muchas veces hacemos: si un progenitor de ese hombre es Rh (-) es decir cde/cde o bien Ce ó Cce, y el mismo carece de "D", pero no de "C", el haplotipo que porta es Cde, y eso le daría un gran chance de paternidad positiva, pero no incrementaría, por todo lo dicho el porcentaje de hombres excluidos.

En el ejemplo puesto el porcentaje de hombres excluidos de la paternidad de ese niño resultará asombrosamente pequeño. Así: para el sistema "ABO" solo pueden excluirse como padres a los que sean "AB" es decir el 3% y lo pueden ser el 97%.

Por lo dicho en el sistema Rh se excluirían a los C(-) es decir al 33%, mientras que quedarían sin excluir el 67%. esto comparado con la cifra del 99% de excluidos o del 1% de hombres sin excluir, es el talón de Aquiles del método de exclusión, que es el preferido de letrados y juristas.

En el sistema MNSs, solo podrían ser padres el 67% que son los que portan el "Ns" mientras que se excluirían al 33%...

La multiplicación de los que podrían ser padres en cada sistema: 0,97 x 0,67 x 0,67... da una cifra de 0,12. es decir solamente un 12% de hombres pueden ser padres de ese niño, mientras que el 88% de los hombres quedan excluidos como padres posibles. Si comparamos el resultado combinado de tantos sistemas con el que "debería" deducirse del gen "Cde", vemos que este método desperdicia cantidad de información genética.

ASIGNACION POSITIVA DE PATERNIDAD

Aunque es lógico pensar que si, una vez hecha una gran batería de marcadores" con las cuáles ofrecemos "a priori" un chance de exclusión de más del 95% a un hombre inocente, no encontramos exclusión y, por ejemplo, se logra excluir al 99% de los hombres de ese ambiente, se está indicando que el acusado es el padre biológico, hace falta un cálculo estadístico de las probabilidades de paternidad de ese hombre.

Si volvemos al ejemplo pasado y, sin refinamientos especiales, calculamos las probabilidades de que cada uno de los "obligados marcadores genéticos" en el niño de procedencia paterna, sean acarreados por un espermio de tal hombre, saldrían las siguientes cifras:

Como tal acusado es monocigote "OO" en el sistema "ABO" las probabilidades que el gen "O" vaya en uno de sus espermios es del 100%, es decir todos los espermios llevaran "O".

Para facilitar los cálculos al 100% le llamamos 1 y al 50% le llamamos 0,5.

En el sistema MNSs el gen "Ns" del niño de obligada procedencia paterna va también en todos los espermios: probabilidad de ser acarreado en un espermio = 1.

Para el gen "Cde" como el acusado es Cce, es decir de fórmula genotípica Cde/cde, solo el 50% de sus espermios lo llevaran y por lo tanto las probabilidades de ir en el espermio adecuado son de 0,5. Y lo mismo sucede con el gen Hp^2 , Gc^2 y AcP^b ...

Para los sistemas (PGM, ADA, AK etc) donde sea monocigote, las probabilidades son del 100%. La combinación de todas las frecuencias es : 0,0625.

Ahora hay que comparar esas probabilidades en fabricar ese espermio que porte juntos todos los genes del niño de obligada procedencia paterna con las probabilidades que un hombre medio u hombre tomado al azar tiene en producir ese mismo tipo de espermio.

Aquí hay que ir considerando sistema por sistema: en el sistema ABO, el porcentaje de genes nos dice que el 68% de ellos pertenecen al gen "O". En el sistema MNSs, el 39% de ellos son genes o haplotipos "Ns"; en el sistema Rh el 1% de los tripletes son " Cde"; en las haptoglobinas el 58% son genes Hp^2 ... por lo tanto las probabilidades de que en un espermio vayan juntos todos esos genes, se deduce de la multiplicación de todas las frecuencias, al ser sucesos independientes (sistemas sanguíneos no correlacionados). La probabilidad combinada sería del 0,00014.

Ahora solo hay que comparar las probabilidades del acusado en producir el obligado espermio fecundante, con las que tiene un ciudadano medio:

$$\frac{0,0625}{0,00014} = 446$$

446 son las veces que el acusado es más probable padre que ^{un} ciudadano medio

BIBLIOGRAFIA.....

- 1- WIENER AS ET AL.**
"A note on studies in isoagglutination"
J. Immunol. 17: 357 (1929)
- 2- DEROBERT L**
"Medicine legale"
Cp. 28 "Groupes sanguins et recherche de Paternite"
pp 751-792
- 3- MENDEL G.**
"Versuche über pflanzenhybriden"
Verhandlungen des Naturforschenden Vereins
(Brün) 1865.
- 4- LANDSTEINER K**
"Ueber agglutinationsserscheinungen normalen menschlichen blutes"
Klin. Wchnschr 14:1132 (1901)
- 5- WIENER AS.**
"Advances in blood grouping III"
Grune & Stratton N.Y. 1970
- 6- FARABEE**
"Inheritance of digital malformations in man"
Harvard university 3:69 (1903)
- 7-MC KUSICK V and HAWS DV**
"Farabee's brachydactylous kindred revised"
J. Hopkins Med. J. 113: 20-30 (1963)
- 8-GARROD AE**
"The incidence of alcaptonuria: a study in chenial individuality"
Lancet II : 1616 -1620 (1902)
- 9- MOHR O L, WRIEDT C**
"A new Type of hereditary brachyphalangia in man"
Publ. Nr 295:1-64 (1919)
- 10-TIMOFEEF-RESSOUSKIY NW**
"Gerichtetes variieren in der phänotypischen ... drosophila funebris"
Naturw 19:493 (1931)
- 11-PROKOP O**
: Grupos sanguíneos humanos"
Ed. Cient. Med pp 131 Barcelona (1970)
- 12-VOGEL F AND MOTULSKI AG**
"Human genetic"
Springer- Verlag pp 85 (1982)
- 13-MACKLIN MT**
"A study of retinoblastoma in Ohio"
Am, J. Human. Genet. 12:1-43 (1960)
- 14-RACE RR AND SANGRE R.**
"Los grupos sanguíneos humanos"
2ª edición en español La prensa médica mexicana pp 433 (1975)
- 15-SIEMENS H. W**
"Die zwillingspathologie"
Berlin Springer 1924
- 16-SIEMENS H. W.**
" die leitungsfähigkeit der zwillingspathologischen arbeitmethode"
Z. induktive abs. Vere. 33:348 (1924)
- 17-SIEMENS H. W.**
"Zur geschichte der zwillingsmethode"
z. menschl. Vererbungs konstitutionslebre 31:171 - 173 (1952)
- 18-SCHIFF F AND V VERSCHUER O.**
"Serologische untersuchungen and zwillingen"
II Mitt. Z. Morphol. Anthropol. 32:244(1933)
- 19-ver ref, 14 en pp 446**
- 20-COTTERMAN CW**
comunicación personal a RACE 1951
- 21- SMITH SM AND PENROSE LS**
"Monozygotic and dizigotic twin diagnosis"
Human Genet. 19:273-289 (1955)
- 22-FISHER R. A.**
"Standard calculations for evaluating a blood group system"
Heredity 5: 95-102 (1951)

- 23-SCHEINFELD A.**
 "Your heredity and environment"
 Lippincott Phil 1965
- 24- FRASER F (NORA JJ AND CLARKE)**
 "Medical genetic: Principles and pratique"
 pp 197-200 (1974)
- 25-BRYANT NJ**
 "Disputed paternity"
 G. Thieme Verlag NY 1980
- 26-FORD E. B.**
 "Genetics for medical students"
 7ª edición Chapman and Hall. London 1973
- 27-MIRALLES**
 "La herencia en el hombre"
 Alhambra Madrid 1977.
- 28- SANCHEZ CASCOS A.**
 "Manual de genética médica"
 Ed. Científico Medica Barcelona 1980
- 29-LENZ W.**
 "Genética médica"
 Nº 43 colección biblioteca médica de bolsillo Salvat 1981
- 30-HARTL DL**
 "Our uncertain heritage: genetics human diversity"
 2ª edición Harper & Row publ. 1985
- 31-MC KUSICK V. A.**
 "Mendelian inheritance in man"
 16ª ed. Johns Hopkins university press 1983
- 32- BERNARD H. J.**
 "clinical diagnosis and management"
 16ª edición pp 1507 Saunders 1979.
- 33-American Association of Blood Bank** 1981
- 34-POLESKY H. F. AND KRAUSE H.D.**
 "Blood typing in disputed paternity cases-capabilities of american laboratories"
 Transfusion 17:521-524 (1977)
- 35-HENNINGSEN K**
 "Inclusion probabilities in parentage testing"
 pp. 39 AAB 1983
- 36-PROKOP O.**
 "grupos sanguíneos humanos"
 ed. C. med. Bma 1970
- 37-WIENER AS AND WEXLER IB**
 "Heredity of the blood groups"
 Grune & Stratton NY 1958
- 38-LEE C. L.**
 ver ref 32
- 39-STEVENSON AC AND KERR C. B.**
 "On the distribution of mutation to genes determining harmful traits in man"
 Mutation Res 4: 339 (1967)
- 40-LEVINE P ET AL**
 "Blood 10:1100"
 (1955)
- 41-BOORMAN K.E. ET AL**
 "Blood group serology"
 5ª edición Churchill Livingstone 1977
- 42-RACE RR Y SANGER R.**
 "Blood group in man"
 6ª ed. Blackwell London 1975
- 43-SALMON CH ET AL**
 "The human blood groups"
 Masson 1984
- 44-WIENER AS AND SOCHA WW**
 "J. For. CSci. 21:42 (1976)

- 45- ALLEN FH**
 "Null types of the human erythrocyte blood groups"
 Am. J. Clin. Pathol 66:467 (1976)
- 46-CHEN S. AND GIBLETT ER**
 "Genetics of glutamic pyruvate transaminase; its inheritance... activity"
 Ann. Human. Genet. 35:401
- 47- DYKES D.**
 "Serum proteins and erythrocytes enzymes in paternity testing"
 In a seminar...AABB pp.27-42 (1975)
- 48- DYKES D.**
 "The usefulness of serum protein and erythrocytes polymorphisms in paternity testing"
 Am. J. Clin. Pathol. 65:6982 (1976)
- 49- POLESKY H. F.**
 "Paternity testing"
 Chicago Am. Soc. Clin. Path. 1975
- 50-POLESKI ET al:**
 "Serum proteins in paternity testing"
 Idem idem 1975
- 51- SUSSMAN LN:**
 "Paternity testing by blood grouping"
 2^a ed.Ch. Thomas 1976
- 52.- LEE CL:**
 "Current status of paternity testing"
 Fam. Law.Q. 9:615 (1975)
- 53.- SEYFRIED ET AL:**
 "Unusual inheritance of ABO group in a family with weak B antigens"
 Vox. sang. 9: 268 (1964)
- 54.- YAMAGUCHI H ET AL:**
 "an A2B3 phenotype blood showing and atypical mode of inheritance"
 Proc. imp. acad. Japan 41:316
- 55.- REVIRON J ET AL:**
 "Une exemple de chromosome "Cis A1B"
 Nov. Rev. Franc. Hemat. 8: 323 (1968)
- 56.- LEVINE ET AL :**
 "Gene interaction resulting in suppression of blood group substance B"
 Blood 10: 1100-1108 (1955)
- 57.- FILITTI-WURMSER S.:**
 " Etude quantitative de l' heterogenete des agglutinines anti-A ou anti-anti-B immunes des serum humains"
 Rev. Hemat. 15: 25 (1960)
- 58.-FILITTI-WURMSER S.:**
 "Physico chemical study of human iso-haemagglutination"
 Ann Eugen 18: 183 (1954)
- 59.- SALMON CH. ET AL:**
 "Quantitative and thermodynamic studies of erythrocyte ABO antigens"
 Transfusion 16: 580 (1977)
- 60.- SALMON CH. ET AL:**
 "Tentative approach to variations in ABH.."
 Hematol 2: 3-33 (1969)
- 61.- SALMON CH. ET AL:**
 "Immunogenetique des antigens ABH"
 Nouv. Rev. Franc. Hemat. 11: 850-862 (1971)
- 62.-SALMON CH. ET AL:**
 "In Handbookseries clinical laboratory sciences"
 CRC vol. 1 pp 71-105 (1977)
- 63.-SALMON CH. ET AL:**
 "Le reinforcement allelique"
 Rev. Franc. Trf. Imm. 19: 145 (1976)
- 64.-SALMON CH. ET AL:**
 "Current genetic problems in ABO blood group system"
 Biomedicine 18: 375 (1973)

- 65.-SALMON CH. ET AL:**
 "Le groupe sanguins Am dans deux generations d' unememe familie"
 Rev. Hematol. 13: 529 (1958)
- 66.-CARTRON J. P. ET AL:**
 "Weak A phenotypes"
 Immunology 27: 723 (1974)
- 67.-CARTRON J. P. ET AL:**
 "'Etude quantitative et thermodynamique des phenotypes erythrocytaires "a faible" "
 Rev. Fr. Tranf. imm. 19: 35 (1976)
- 68.-CARTRON J. P. ET AL:**
 "Study of a-N--acetylgalactosaminyltransferases in human sera"
 Vox sng. 28: 347 (1975)
- 69.-CARTRON J. P. ET AL:**
 Assay of N-acetylgalactosaminyltransferases and red membranes of human A subgroups"
 J. Immnu 5: 107 (1978)
- 70.-CARTRON J. P. ET AL:**
 "Weak A phenotypes..."
 Immunology 27: 792 (1974)
- 71.- PROKOP O.:**
 ver ref. num. 36 pp. 131 y 132.
- 72.- TIPPETT P.:**
 "A case of suppressed Lu^a and Lu^b antigens"
 Vox. sang. 20: 378 (1971)
- 73.-CONTRESRAS M AND TIPPETT P.:**
 "The lu(a- b-) syndrome and an apparent upset of P1 inheritance"
 Vox. sang.27: 369 (1974)
- 74.- POLESKY H.F.:**
 "The frequency of "null" genes calculated from trios indisputed parentage cases"
 Forensic sci. intern. 23: 69 (1983)
- 75.- WIENER AS:**
 "ABO blood groups and Lewis types"
 pp 100-101 Stratton inern. 1976
- 76.-WIENER AS, LEDERER M. AND POLAYES S.H.:**
 J. immunol 19: 259 (1930)
- 77.-WIENER AS:**
 in immunol 24: 443 (1933)
- 78.-WIENER AS:**
 in "Advances in blood grouping vol III"
 pp 269-273 Grune & Stratton 1970
- 79.-WIENER AS:**
 "Blood groups and transfusion"
 3^a ed. Ch. Thomas 1943
- 80.- ver ref. num. 51:**
 cap. 7^o (pp 124 a 132).
- 81.- ver ref. num. 35**
 pp116-121 y 609-618
- 82.- BAYES T.:**
 "An essay towards solwing a problem in the doctrine chances"
 Philos Trans. R. Soc. London 53: 370 (1763).Republicado en Biometrika 45: 296 (1958)
- 83.- ESSEN MOLLER E:**
 "Die Beweiskraft der Ahnlichkeit im Vaterschaftsnachweis: theoretische grundlagen"
 Mitt Anthrop. Ges. 68: 9-53 (1938)
- 84.- HUMMEL K:**
 "Das biostadistische gutachten als forensisches Beweismittel"
 Arzl Lab. 25: 131-137 (1979)

- 85.-HUMMEL K:**
 "Die medizinische
 vaterchaftsbegutachtung Mit
 biostatistischem beweis"
 Stuttgart 1961
- 86.-HUMMEL K:**
 "Biostatistische
 abstammungsbegutachtung mit
 blutgruppenbefunden"
 Stuttgart G. Fischer 1971
- 87.-HUMMEL K:**
 "Biostatistische
 abstammungsbegutachtung mit
 blutgruppenbefunden Tabellenband II"
 Stuttgart G. Fischer 1973
- 88.- HUMMEL K:**
 "Biostatistische
 abstammungsbegutachtung...
 Tabellenband I y II"
 Freiburg 1973
- 89.-HUMMEL K:**
 "Biostatistische
 abstammungsbegutachtung, Dritte...I-II"
 Friburg 1975
- 90.-HUMMEL K:**
 "idem idem..."
 Friburg 1977
- 91.- GÜRTLER H:**
 "Principles of blood-group statistical
 evaluation of paternity cases"
 Inst. Med. For. Copenhagen (: 83-93 (1956)
- 92.- KATAJA M.:**
 "Simulation in paternity analysis"
 Helsinki Thesis Inst. Matern. Univ. Tecn. 1975
- 93.- AMY L:**
 "Probabilities groupes sanguins et
 paternite"
 Bull. Soc. Sattisc. Paris 1944
- 94.- HIRSZFELD L ET MILGROM F.:**
 "Sur l' application des examens de
 groupes sanguins dans les rechesches
 de paternite"
 Rev. D'hemat. 4: 6-27 (1949)
- 95.-RUFFIE J. ET HURON R.:**
 "Nouvelle methode de calcul de la
 probabilite de paternite"
 Ann Med. Leg. Crim. 33: 164-167 (1955)
- 96.- ESSEN MOLLER E:**
 "Zur theorie des vaterchaftsnachveises
 auf grund von Anhlichkeitsbefunden"
 Dtsch. Z. Gericht. Med. 31: 70-96 (1939)
- 97.-GÜRTLER H:**
 ver ref. 91
- 98.- WIENER AS:**
 "ABO blood groups and Lewis types"
 ver cuestion num 90. Grune & Stratton 1976
- 99.- WIENER AS:**
 "Chances of proving non-paternity by
 blood grouping test when the putative
 ffather is dead"
 Acta Geneticae medicae et Gem. Vol. 18: num
 3: 285-293 (1969)
- 100.- NIJENHUIS LE:**
 "The use of haematogenetic markers in
 paternity studies and in the diagnosis of
 zygoty of twins"
 Immunohaematology Vol. 5 Elsevier 1984
- 101.- NIJENHUIS LE:**
 "Probability of paternity in cases where
 exclusion by blood group test is not
 possible"
 Acta genet. Basel. 6: 607-611 (1956 y 1957)
- 102.- NIJENHUIS LE:**
 "Three peculiar paternity studies"
 9 th int. Congr. Bern. pp 618-619 (1981)

103.- NIJENHUIS LE:

"Mathematical aspects of the paternity index $I=X/Y$ especially in relation to the chance of non-exclusion of non-fathers"

Rechts med. 89: 1-20 (1982)

104.- NIJENHUIS LE:

"A critical evaluation of various methods of approaching probability of paternity"

In conclusion probabilities in parentage testing
pp 103-112 AAB 1982

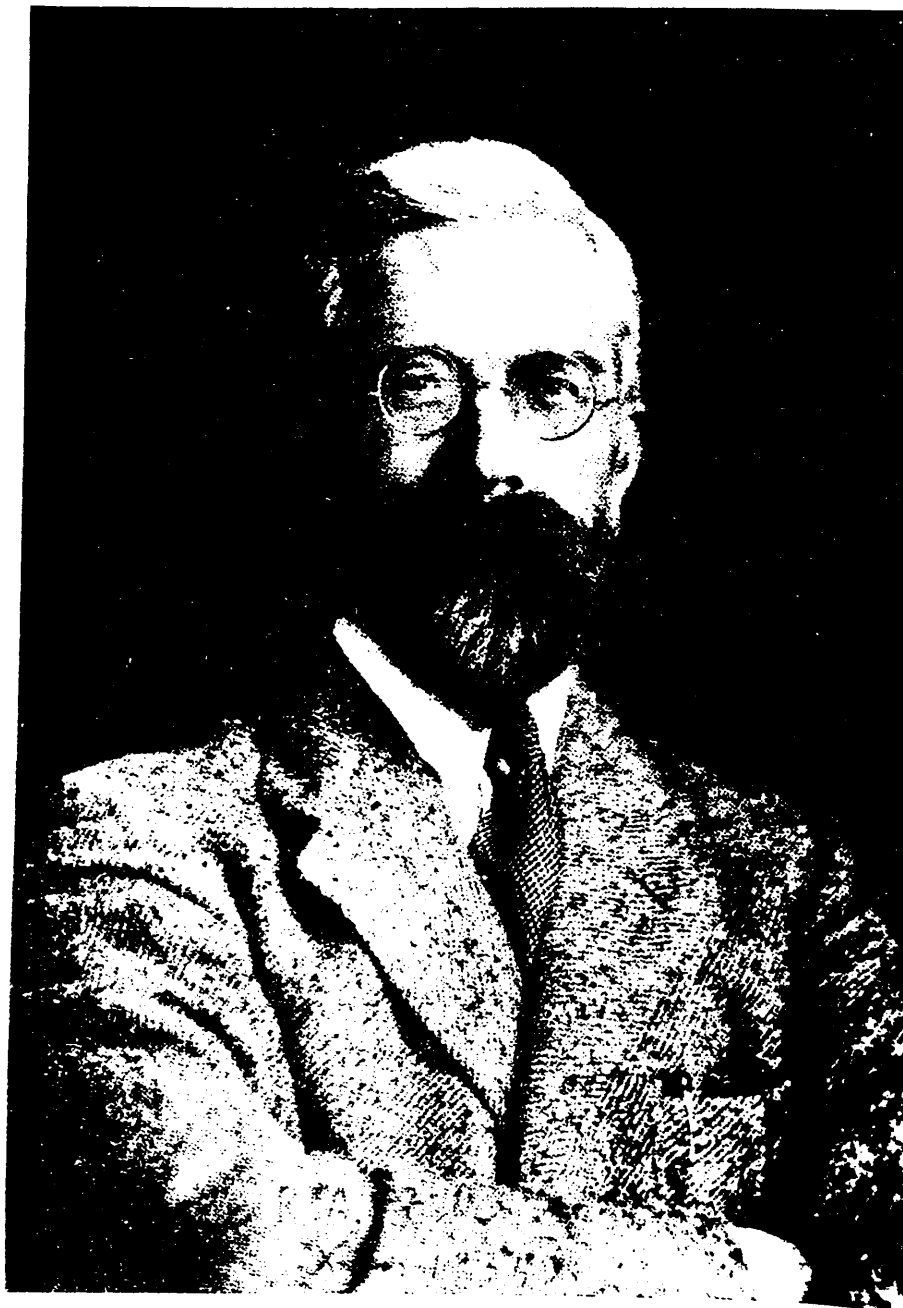
105.- RITTER H:

"Personliche Mitteilug"

1968

CAPITULO VI

BOSQUEJO HISTÓRICO DEL CÁLCULO DE PROBABILIDADES DE LA PATERNIDAD



Sir RONALD FISHER

Prof de Eugenética (Galton Londres)
Director del Dtº de Genética de Cambridge

Es la cumbre indiscutible de la bioestadística

Hay acuerdo común al emplear en estos cálculos el teorema de Bayes, debido a este pastor presbiteriano que en el año 1763 publicó su famoso artículo (82) para resolver los problemas de los "chances".

En un conocido ejemplo de aplicación del Teorema de Bayes en el que se consideran los siguientes supuestos:

*gestación, bacteriuria y pielonefritis.

Se parte de un supuesto conocido: el 6% de las gestantes padecen bacteriuria.

Llamemos A1 al caso de la gestante con bacteriuria (0,06)

Llamemos A2 al caso de la gestante no bacteriúrica (0,94)

Es decir probabilidad $A1 = 0,06$ $Pr(A1) = 0,06$

Y probabilidad del suceso $A2 = 0,94$ $Pr(A2) = 0,94$

Tenemos la siguiente información adicional: el 30% de las gestantes bacteriúricas y solo el 1% de las gestantes sin bacteriuria sufren pielonefritis.

Al suceso "gestante con pielonefritis" lo llamaremos "B"

Resumen tabulado:

B/A1.....pielonefritis suponiendo gestante bacteriuria.....0,30
B/A2.....pielonefritis suponiendo gestante no bacteriúrica..0,01

Probabilidades condicionales

Probabilidad de reunión de los sucesos Bacteriuria y Pielonefritis:

$$Pr(A1 \text{ y } B) = Pr(B/A1) \cdot Pr(A1) = 0,30 \times 0,06 = 0,018$$

Probabilidad de gestante sin bacteriuria pero con pielonefritis

$$Pr(A2 \text{ y } B) = Pr(B/A2) \cdot Pr(A2) = 0,01 \times 0,94 = 0,0094$$

Probabilidad de pielonefritis: ocurre con y sin bacteriuria:

$$Pr(B) = Pr(A1 \text{ y } B) + Pr(A2 \text{ y } B)$$

$$\text{Prob. pielonefritis} = 0,018 + 0,0094 = 0,0274.$$

Probabilidad POSTERIOR

Sabiendo que un gestante contrajo la pielonefritis ¿ que probabilidad hay en que previamente fuese bacteriúrica.

$$Pr(A1/B) = Pr(A1 \text{ y } B)/Pr(B) = 0,018/ 0,0274 = 0,6569$$

En el 66% de los casos habrá sido previamente bacteriúrica.

Es decir las probabilidades de pielonefritis tanto en presencia como en ausencia de bacteriuria, adicionado al conocimiento de la frecuencia relativa de la bacteriuria en las gestantes, ha permitido una probabilidad condicionada de que la gestante hubiese sido previamente bacteriúrica suponiendo que haya desarrollado una pielonefritis.

Ahora cambiando los números por letras y obrando en sentido inverso tenemos:

$$\Pr(A1/B) = \Pr(A1 \text{ y } B) / \Pr(B) = \Pr(A1 \text{ y } B) / \Pr(A1 \text{ y } B) + \Pr(A2 \text{ y } B) = \Pr(B/A1) \cdot \Pr(A1) \text{ dividido por } \Pr(B/A1) \Pr(A1) + \Pr(B/A2) \cdot \Pr(A2).$$

La fórmula es sustancialmente igual si en vez de considerar dos sucesos mutuamente excluyentes y exhaustivos se consideran varios.

En casos de investigación de Paternidad hay dos hipótesis alternativas:

Ho = el hombre es biológicamente el padre.

H1 = el hombre no es el padre biológico.

Hay tres probabilidades: que las dos hipótesis tengan unas probabilidades a priori de ser correctas (los dos hombres pudieron tener acceso carnal con aquella mujer al tiempo de la concepción del niño), sin tener en cuenta los fenotipos sanguíneos. Otra posibilidad es que haya unas probabilidades condicionales a la vista de los fenotipos en que puedan ser verdaderas o bien la hipótesis Ho ó bien la H1. Y finalmente hay una probabilidad posterior para cada hipótesis en ser la verdadera.

El T. de BAYES establece que la probabilidad posterior de que Ho sea correcta es el producto de la probabilidad a priori de Ho por la probabilidad condicional dado el fenotipo Ho, y dividido por la suma de este producto del numerador y el correspondiente producto de H1.

Hay común acuerdo en las anotaciones para considerar al fenotipo del hombre con respecto a la madre y niño como "R"

$$P(Ho/R) = \frac{P(Ho) \cdot P(R/Ho)}{P(Ho) \cdot P(R/Ho) + P(H1) \cdot P(R/H1)}$$

Un punto crucial es valorar las probabilidades "a priori".

Para un hombre que viviese en una isla desierta con una mujer, y ella tuviese un hijo, las probabilidades "a priori" son 1 ó del 100%, y por tanto esa sería sus probabilidades de paternidad. Para el hombre señalado por una prostituta "de mucho trabajo" las probabilidades a priori pueden ser insignificantes si al tiempo de la concepción de aquel niño tuvo contacto sexual con muchísimos hombres. Lo más juicioso es dar unas probabilidades a priori neutras (0,5) que no prejuzgan nada...

Entonces la fórmula de BAYES anterior se reduce a:

$$P(H_o / R) = \frac{P(R / H_o)}{P(R / H_o) + P(R / H_1)}$$

Essen Möller (83) llama a las notaciones : $P(R / H_o) = x$ y a la notación $P(R / H_1) = y$

A la notación $P(H_o / R)$ la llama = W

Al dividir el numerador y denominador de la fórmula de BAYES reducida (con probabilidades a priori del 0,5) por $P(R / H_o)$ la fórmula queda convertida en:

$$P(H_o / R) = W = \frac{1}{1 + Y/X}$$

Y/X se le llama índice de paternidad.

Estos índices para cada uno de los sistemas empleados se multiplican para dar la probabilidad acumulada de paternidad.

HUMMEL (84-90) ha introducido, para evitar un sinnúmero de multiplicaciones, los llamados valores $EM = \log(X / Y) + 10$. Y ha publicado para los caucásicos unas tablas completísimas. Hace 30 años que GÜTLER (91) tuvo la idea de dividir el numerador y denominador por $P(R / H_1)$ en vez de por el mencionado de ESSEN MÖLLER de $P(R / H_o)$, simplificándose los cálculos y deduciéndose la fórmula empleada por todos:

$$W = \frac{X / Y}{X / Y + 1}$$

Según demostró KATAJA (92) los resultados son idénticos con ambas fórmulas.

A la notación X / Y se la llama INDICE DE PATERNIDAD (las ventajas a favor de la paternidad).

METODO DE AMY (93)

Data de 1944 en la que se propuso calcular la probabilidad de paternidad de la fórmula :

P_1 / P_2 .

P_1 es la probabilidad del hombre encausado en engendrar de la madre, un niño como el objeto de litigio. P_2 sería lo mismo referido al hombre tomado al azar.

Por ejemplo sea la madre: "O", el niño "A1".

La probabilidad de ese hombre "A1" es igual a la frecuencia del gen "A1" es igual a la frecuencia del gen "A1" entre los individuos del fenotipo "A1":

$$A1A1 + A1A2/2 + A1O/2 = 12 \% + 3,25 \% + 40,7 \% = 55,9 \%$$

Para el hombre tomado al azar (P2) sera la frecuencia génica del gen A1 = 20,2%

$$\text{Probabilidades } \frac{55,9}{20,2} = 2,767$$

Este 2,767 es las veces que tiene más chance en ser el padre un hombre A1 que un hombre al azar.

Si en vez de un hombre A1 se tratase de uno A1B, las probabilidades de paternidad serían:

$$\frac{0,50}{0,202} = 2,488$$

METODO DE HIRSZFELD Y MILGRON (94)

Este proceder es similar al más moderno de RUFFIE y HURON (95) aunque los primeros autores calculan la frecuencia de los hombres excluidos mientras que los segundos calculan la frecuencia de los grupos a que el padre debe necesariamente que pertenecer.

Pongamos el supuesto:

Madre: "O" Niño: "A1"

El padre debe pertenecer necesariamente a los grupos A1 ó A1B, a los que pertenecen el 36,06% de la población.

Pongamos como ejemplo una constelación de grupos:

Madre = O N Rh +

Niño = B N Rh +

El padre puede ser: B ó AB; MN ó N; Rh+ ó Rh -

Las probabilidades P1, P2 y P3 toman los siguientes valores: basándose en las frecuencias fenotípicas:

Para P1 (0,083 + 0,031)

Para P2 (0,503 + 0,207)

Para Pe ($0,86 + 0,14 = 1$)

La multiplicación de esas frecuencias fenotípicas nos dará las probabilidades acumuladas:

$P = (0,114) (0,71) (1) = 0,08094 = 0,081$ (el presunto padre se encuentra entre el 8,1% de los hombres)

Tendrá 12,3 veces mas "chance" en ser el padre del niño que un hombre tomado al azar.

Este método no discrimina entre los hombres "BB" que solo forma gametos "B" de los hombre "BO" que solo forman un 50% de gametos "B".

Los resultados deberían ser expresados separadamente para los supuestos BB, BO y AB y lo mismo para MN y N.

De esto se deduce que ambos métodos dan información insuficiente.

Método de Essen Möller modificado por GURTLE (96) y (97)

Fue elaborado desde 1938 para estudiar el problema de la paternidad sobre la base de caracteres antropológicos y patológicos hereditarios.

Llaman "constelación" al trio de madre, niño y hombre desde el ángulo de su diferencia o parecido por un caracter hereditario determinado.

$$W = \frac{X}{X + Y}$$

o bien

$$W = \frac{1}{1 + y / x}$$

W= Probabilidad

X= Frecuencia de una tal "constelación" en la hipótesis de una paternidad verdadera.

Y = La frecuencia de esta misma "constelación" en la población en general.

Como W puede oscilar entre 0% y 100% vemos que un valor de 50% no autoriza a ninguna conclusión, mientras que los valores muy por debajo de 50% tenderán a confirmar la presunción de no paternidad y al revés.

Así , para ESSEN MÖLLER un W entre 99,73 % y 100 % corresponde a "una paternidad demostrada" . Y una W comprendida entre 95,5 % y 99,73 % corresponde a "una paternidad muy probable".

Como al estudiar muchos caracteres independientes, la fórmula se convierte:

$$W = \frac{1}{1 + Y_1 / X_1 + Y_2 / X_2 + \dots}$$

GURTLEER modificó la fórmula de ESSEN MÖLLER considerando el índice X/Y que él llama índice de paternidad, lo cual es el inverso.

Supongamos la siguiente combinación:

*MADRE = "O" "M"

*NIÑO = "A₂" "MN"

*POSIBLES PADRES..... A₁ N ó MN
A₂ N ó MN
A₂B N ó MN

Bajo las frecuencias (O=0,4709; A₁ = 0,3406; A₂ =0,0772; B= 0,0819; A₁B = 0,0232 y A₂B=0,0062)

Sistema MN (M=0,3136; MN= 0,4928; N= 0,1936)

La fórmula de HURON $\omega = p \cdot F$ (F es la frecuencia del presunto padre en la población).

Con todos estos métodos, las "chances" para un hombre A₂N y A₂B N son del 95 % aproximadamente, que equivale a un índice de 21, mientras que para los hombres A₁ MN no se obtiene más que un índice de paternidad de 0,67.

Los hombres A₂N y A₂BN tendrán 32,5 veces más de "chance" de ser el padre que el hombre A₁ MN.

MÉTODO DE WIENER (98):

El siguiente método preconizado por WIENER desde hace muchos años no es un método original, pero si es riguroso y tiene su fundamento en las leyes de Genética de Poblaciones. Con un ejemplo sacado de la casuística real, quedará perfectamente explicado:

En un caso de paternidad disputada en que la madre señaló a dos hombres como posibles padres de su hijo, los grupos ABO eran los siguientes:

MADRE: "O" NIÑO: "A₂" 1 HOMBRE: "A₁" 2 HOMBRE: "A₂"

Si partimos que las frecuencias génicas son:

O = 0, 673; A¹ = 0,179; A² = 0,05 y B = 0,091

La madre le ha pasado a su hijo un gen "O" pero el gen del niño "A²" le viene de su padre biológico. Ninguno de los dos hombres queda excluido, pero sus probabilidades de paternidad son muy diferentes:

El primer hombre pertenece al subgrupo A₁ y su genotipo puede ser el siguiente:

A¹ A¹ (frecuencia 0,03204), A¹ O (frecuencia 0,2409), o finalmente:

A¹ A² (frecuencia 0,0204).

Por lo tanto el chance que un espermio de un hombre A₁ acarree un gen A² sera:

$$\frac{0,012}{(0,03204 + 0,2409 + 0,0204)} = 0,0409$$

Otra cosa muy distinta sucede a un hombre de fenotipo A², en que sus posibilidades genotípicas se reducen a:

A² A² (frecuencia 0,003249) y A² O (frecuencia 0,07672)

De ello se deduce que el chance de un espermio de un hombre A₂ acarrea un gen A² será el siguiente:

$$\frac{(0,003249 + 0,03836)}{(0,003249 + 0,0762)} = 0,5203$$

Por lo tanto la superioridad o ventajas de que el gen A² del niño provenga de un hombre A₂ antes que de un hombre A₁ será:

$$\frac{0,5203}{0,0409} = 12,72 \text{ a } 1$$

Se debe al mismo WIENER una metódica para calcular las probabilidades de exclusión de un hombre muerto si contamos con la sangre de los abuelos pretendidamente paternos del niño (99).

Estos estudios de WIENER son ya clásicos y han sido la base para posteriores desarrollos matemáticos actuales:

1º Caso de un solo caracter mendellano dominante:

Pongamos por ejemplo el sistema KELL, disponiendo del antisuero anti-KELL, con el cual dividimos a la población en personas KELL (+) y KELL (-).

El único caso de exclusión sería cuando los abuelos paternos son ambos K (-) y la madre del niño es también K (-) mientras que el niño es K (+).

Si al suceso K (-) le llamamos "R" y al K (+) "p", las probabilidades de exclusión serían:

$$P = R^3 p$$

Como el fenotipo KELL (-) está en el 90 % de las personas y la frecuencia del gen KELL es solo del 0,05, las probabilidades de exclusión serían de: $(0,90)^3 \cdot 0,05 = 0,036$ (3,6 %).

Las máximas chances vendrían dadas cuando las frecuencias génicas son: $q = 6/7$ y $p = 1/7$.

Se deduce fácilmente, a mi juicio, de las siguientes operaciones:

$$R = q^2 \text{ luego } R^3 = q^6 \quad p = 1 - q.$$

Entonces la fórmula $P = R^3 p$ se convierte en $= q^6 (1-q) = q^6 - q^7$

Por lo tanto $dP/dq = 6q^5 - 7q^6$ que será máximo cuando $6q^5 - 7q^6 = 0$ es decir con $q = 6/7$ y $p = 1/7$.

Esto se corresponde con los fenotipos $K(+) = 0,265$ y $K(-) = 0,735$ que conduce a $P = (0,735)^3 \cdot 0,265 = 0,143$ (14,3 %).

2º caso de dos genes codominantes:

En este caso las fórmulas derivadas por WIENER en el trabajo citado (referidas al sistema MN por ejemplo) son:

$$P = \bar{M}^2 n (1-mn) + \bar{N}^2 m (1-mn) \text{ que se convierte en :}$$

$$P = m^4 n (1 - mn) + mn^4 (1-mn) = mn (1-mn) (1-3mn)$$

Las chances máximas se obtienen cuando los dos genes m y n son iguales a (0,5), dando un chance exclusión de 4,7 %.

Esa exigua cifra contrasta con el 18,75 % de capacidad de exclusión del sistema MN si el padre viviera.

3 caso en un sistema de 3 alelos, dos dominantes y uno amorfo

El ejemplo ideal es el sistema ABO. como siempre los fenotipos se designan con las letras A, B, O y AB mientras que las frecuencias génicas respectivas con las letras p, q y r.

ABUELOS PTERNOS	MADRE	NIÑO	FRECUENCIA
$\left. \begin{array}{l} O \times O \\ O \times A \\ A \times O \end{array} \right\}$	$\left\{ \begin{array}{l} O \\ A \end{array} \right.$	$\left. \begin{array}{l} B \\ B \text{ ó } AB \end{array} \right\} \longrightarrow$	$(\bar{O} + \bar{A})^3 q$
$\left. \begin{array}{l} O \times O \\ O \times B \\ B \times O \\ B \times B \end{array} \right\}$	$\left\{ \begin{array}{l} O \\ B \end{array} \right.$	$\left. \begin{array}{l} A \\ A \text{ ó } AB \end{array} \right\} \longrightarrow$	$(\bar{O} + \bar{B})^3 p$
$O \times O$ $AB \times AB$	AB --	AB O	$1/2 \bar{O}^2 \bar{A} \bar{B} (1-r)$ $\bar{A} \bar{B}^2 \cdot O$
$O \times O$ $AB \times AB$	no testada no testada	AB O	$\bar{O}^2 \cdot \bar{A} \bar{B}$ $\bar{A} \bar{B}^2 \cdot \bar{O}$

Las probabilidades de exclusión = $(O + A)^3 q + (O + B)^3 p + 1/2 O^2 \cdot AB (1 - r) + AB^2 \cdot O$. Las probabilidades para las frecuencias de la mayoría de las poblaciones oscila entre un 10 y un 12%, lo cual es una buena cifra comparada con las probabilidades del 18,5% que se obtiene en el supuesto que el presunto padre viviese.

4º en un sistema de tres alelos codominantes:

WIENER había deducido fórmulas para este caso con padre vivo, que en una población con los tres genes muy equilibrados (1/3), el chance de exclusión subiría nada menos que al 37%, con solo este sistema.

Cuando el padre esta muerto y el análisis es a partir de los abuelos paternos, el chance no es nada despreciable pero baja el 15,6%.

METODO CENTROEUROPEO DEL CALCULO DEL INDICE DE PATERNIDAD

Este método se sigue en suecia, Dinamarca, Alemania etc. Parten de las dos hipótesis:

- 1) El padre putativo es el padre.
- 2) El padre putativo no es el padre.

X= el chance que la combinación del triplete: hombre al azar- madre- niño puede tener la misma composición fenotípica (composición de grupos sanguíneos) que el encontrado en el presente estudio cuando el padre putativo es el verdadero padre.

Y= Es el chance que tal combinación ocurra cuando el hombre no es el padre

Ejemplo: Hombre = Cce (Cde / cde)
 Madre = ce (cde / cde)
 Niño = Cce (Cde / cde)

Las frecuencias de los haplotipos en la población son las siguientes:

Cde..... 0,01

cde..... 0,040

Los cálculos son como siguen:

El chance que un hombre de fenotipo Cce es igual a $2 \times 0,40 \times 0,01$.

El chance de una madre con fenotipo ce es igual a $0,40^2$

El chance de un niño con padre de fenotipo Cce y madre e, pueda tener por fenotipo Cce es igual a Cce = 0,5.

El chance que una madre con fenotipo "ce" y un hombre desconocido pueda engendrar un niño Cce es 0,01

$PI = I = \frac{X}{Y} = \frac{(2 \times 0,01 \times 0,40) \cdot 0,40^2 \cdot 0,5}{(2 \times 0,01 \times 0,40) \cdot 0,40^2 \cdot 0,01} = 50$
--

Si en vez de este ejemplo ponemos el siguiente:

Presunto padre = CcDe Madre: cde Niño = Cce

El cálculo es algo más complicado:

Tengamos en cuenta que las frecuencias en la población son : CDe = 0,40 y cDe = 0,02

El chance de un hombre al azar de tener el genotipo CDe / cde es igual a : $2 \times 0,40 \times 0,40$. El de tener CDe / cDe = $2 \times 0,40 \times 0,02$.

Y el de tener el último genotipo posible Cde / cDe = $2 \times 0,01 \times 0,02$.

Los cálculos serán los siguientes:

$$X = ((2 \times 0,40 \times 0,40) \cdot 0,40^2 \cdot 0) + ((2 \times 0,40 \times 0,02) \cdot 0,40^2 \cdot 0) + 0,40^2 \cdot 0,5 = 0,000032.$$

$$Y = ((2 \times 0,40 \times 0,40) + (2 \times 0,40 \times 0,02) + (2 \times 0,01 \times 0,02)) \cdot 0,40^2 \cdot 0,01 = 0,00053824$$

$$I = PI = X / Y = 0,000032 / 0,00053824$$

En el primer ejemplo el índice de paternidad = 50 significa que la combinación de un fenotipo Ccdee, una madre con fenotipo ccdee y un niño con fenotipo Ccdee ocurre 50 veces más frecuentemente en los tripletes en los cuales el es el verdadero padre.

Por el contrario en el ejemplo 2º la cifra I = 0,059 dicha combinación ocurre 0,059 veces más que en los falsos tripletes.

En los casos de exclusión de paternidad X = 0 (PI = 0).

La fórmula general:

$$I = \frac{X}{Y} = \frac{Fr(f) \cdot Fr(m) \cdot p(c/f, m)}{Fr(f) \cdot Fr(m) \cdot p(c/m)}$$

F, M y c significan respectivamente los fenotipos del presunto padre, de la madre y del niño.

Fr (f) y Fr (m) son las frecuencias de F y M en la población.

p (c/f, m) significa el chance de "c" en el hijo de un hombre con fenotipo "f" y una madre con fenotipo "m".

p(c/m) significa el chance de "c" en un niño cuando su madre es "m" y cuando su padre es desconocido (al azar).

Podemos omitir del numerador y denominador todos los términos iguales , quedándose definido X como el chance que un niño tendrá el fenotipo del niño bajo estudio, cuando su padre biológico y su madre tienen el fenotipo del presunto padre y madre en el triplete bajo estudio. Y será el chance que un niño tendrá ese fenotipo, cuando la madre tiene el fenotipo bajo estudio y el padre es un hombre al azar. En los casos en que se prefiera dividir numerador y denominador por Fr (m) . p (c/m), conduce a una nueva interpretación del índice de paternidad:

$IP = I = X / Y = p (f / m, c) / Fr (f)$ que en su forma recíproca:

$$L = \frac{Y}{X} = \frac{Fr (f)}{p (f / m, c)} \text{ es el original concepto de Essen Möller (1938)}$$

X= el chance que un padre perteneciente a una combinación madre-hijo con la misma composición dsanguínea que la encontrada en el estudio madre-hijo, tendrá el mismo grupo sanguíneo que el encontrado en el padre putativo.

Y= el chance que un hombre al azar tendrá en poseer el mismo tipo de sangre como el padre putativo.

Son muy demostrativos los valores PI (I) encontrados en 307 casos para los falsos padres y para los padres verdaderos, descritos por NIJENHUIS (100).

<u>DISTRIBUCION DE LOS INDICES DE PATERNIDAD</u>		
Valores PI	Tripletes con padre verdadero	tripletes con falso padre
inferior a 4	0 2%	0,30%
entre 4 y 9	6	
entre 9 y 19	3 1%	0,06%
entre 19 y 49	18 5,9%	0,22%
entre 49 y 99	25 8,1%	0,12%
entre 99 y 199	44 14,3%	0,10%
entre 199 y 999	65 68,7%	0,07
superior a 999	146	
Exclusión (I=O)	-- --	99,13
TOTAL	307 100%	100%

Son dignos de destacar varios estudios matemáticos del autor últimamente mencionado (101-104).

Cálculo de las Probabilidades de Paternidad por el método de "Barrido de Genotipos"

Es quizá el método preferido por los modernos autores americanos, tratándose de un procedimiento extradamente lógico y exhaustivo.

Pongamos como ejemplo: madre, niño y supuesto padre del grupo B

Las frecuencias génicas son las siguientes

$$A^1 = 0,2038; A^2 = 0,0700; B = 0,0658; O = 0,6604$$

Se van siguiendo las siguientes etapas:

1º no hay exclusión.

2º no es evidente el gen transmitido por la madre al niño.

3º Los gametos maternos se derivan por la fórmula Hardy - Weinberg

MADRE POSIBLES GENOTIPOS	Hardy- Weinberg	Frecuencia Abs. genotipos	Frecuencia Relat. genotipos
BB	$(0,0658)^2$	0,0043	0,0471
BO	$(2) (0,0658) (0,6604)$	0,0869	0,9529
		<hr/> 0,0912	<hr/> 1,0000

Gametos Producidos	Genotipo	Frecuencia	Probabilidad	Frec. Gam. producidos
B	BB	0,0471	1	0,0471
	BO	0,9529	0,5	<hr/> 0,4764
				0,5235
O	BO	0,9529	0,5	<hr/> 0,4764
				<hr/> 1,0000

Chance de transmitir B= 0,5235 O = 0,4764

Para el presunto padre los cálculos serían idénticos y con las mismas probabilidades de transmitir "B" y "O"

VALOR	Si la madre transmite		El P. P. transmitirá		Probabilidad
X	GEN	Chance	GEN	Chance	
	B	0,5235	B	0,5235	0,2740
	ó B	0,5235	O	0,4764	0,2494
	ó O	0,4764	B	0,5235	0,2494
					<u>0,7728</u>
					X= 0,7728

VALOR	Si la madre transmite		Hombre al azar		Probabilidad
Y	GEN	Chance	GEN	Chance	
	B	0,5235	B	0,0658	0,0344
	ó B	0,5235	O	0,6604	0,3457
	ó O	0,4764	B	0,0658	<u>0,0313</u>
					Y= 0,4114

$$\text{Indice de paternidad} = X/Y = 0,7728 / 0,4114 = 1,878$$

$$\text{Chance relativo de paternidad} = X / (X + Y) = 65,25 \%$$

Finalmente vamos a exponer un método debido a LEE, que es extraordinariamente sencillo y da los mismos resultados que los métodos más elaborados (Pag. Siguiente):

Ejemplos	fenotipos		Gen niño desde		Chance h al azar	Chance patern del P.P. (X)	
	Niño	Madre	Madre	Padre		AB	B
nº1	B	A	O	B	$1 \times 0,0658 = 0,0658$	$1 \times 0,5$	$1 \times 0,524 = 0,524$
nº2	AB	AB	A(0,5)	B	$0,5 \times 0,0658 = 0,0329$	$0,5 \times 0,5$	$0,5 \times 0,524$
			B(0,5)	A	$0,5 \times 0,274 = 0,137$	$0,5 \times 0,5$	$0,5 \times 0$
					<u>0,1699</u>	<u>0,5</u>	<u>0,262</u>
nº3	B	B	O(0,476)	B	$0,476 \times 0,0658 = 0,0313$	$0,476 \times 0,5$	$0,476 \times 0,524$
			B(0,524)	B,O	$0,524 \times 0,7269 = 0,3804$	$0,524 \times 0,5$	$0,524 \times 1$
					<u>0,4117</u>	<u>0,773</u>	<u>0,500</u>

Según los distintos tres ejemplos expuestos arriba vamos a calcular los índices de paternidad.

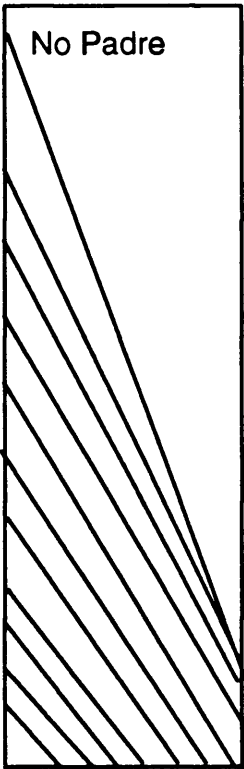
INDICE DE PATERNIDAD

	Hombres AB	Hombre B
Ejemplo 1	$0,5 / 0,0658 = 7,6$	$0,524 / 0,0658 = 7,96$
Ejemplo 2	$0,5 / 0,1699 = 2,94$	$0,262 / 0,1699 = 1,54$
Ejemplo 3	$0,5 / 0,4117 = 1,22$	$0,773 / 0,4117 = 1,88$

Puede comprobarse con este sencillo método en vez de 1,878 nos dió un índice de 1,88 (igual).

En el informe debemos emplear los predicamentos verbales recomendados por HUMMEL y que tienen común aceptación.

TABLA DE LOS PREDICADOS VERBALES DE HUMMEL PROBABILIDAD DE PATERNIDAD		
Proabilidad de paternidad	Indice de paternidad (PI)	Probabilidad de Paternidad
99,8 a 99,9...%	399:1	Prácticamente probada
99 a 99,7 %	95:1	Extreadamente probable
95 - 98,9 %	19:1	Muy probable
90-94,9 %	9:1	Probable
80 - 89,9 %	4:1	Insinuante
Menosde 80 %	4:1	no útil

INDICE DE PATERNIDAD		RELATIVO CHANCE DE Paternidad No paternidad		SIGNIFICADO
0	0%		100%	Exclusión de paternidad
0,05	5%		95%	No paternidad probablem. En contra paternidad
1	50%		50%	Ni a favor ni en contra A favor de la paternidad
19	95%		5%	Paternidad proable
99	99 %		1%	Paternidad muy prob.
999	99,9 %		0.1 %	Paternidad casi cierta
		PADRE		

Finalmente diremos que son extraordinariamente instructivos los datos aportados por H. RITTER sobre 1.028 valores de combinaciones madre-hijo- padre (para presuntos padres), y 1.029 combinaciones madre-hijo-falso padre, empleando los sistemas siguientes:

ABO, MNSs, ^KFy^a, Rh, Hp, Gc y Gm (1), Inv (1).

Comparándola con los parámetros de HUMMEL se ve que 88 NO PADRES se encuentran en la "zona" de paternidad probable, llegando dos de ellos a la "zona" de una plausibilidad del 98,2 %, rozando el límite del 99% indicado por PROKOP, de que ningún caso de NO PADRE había llegado a ese dintel.

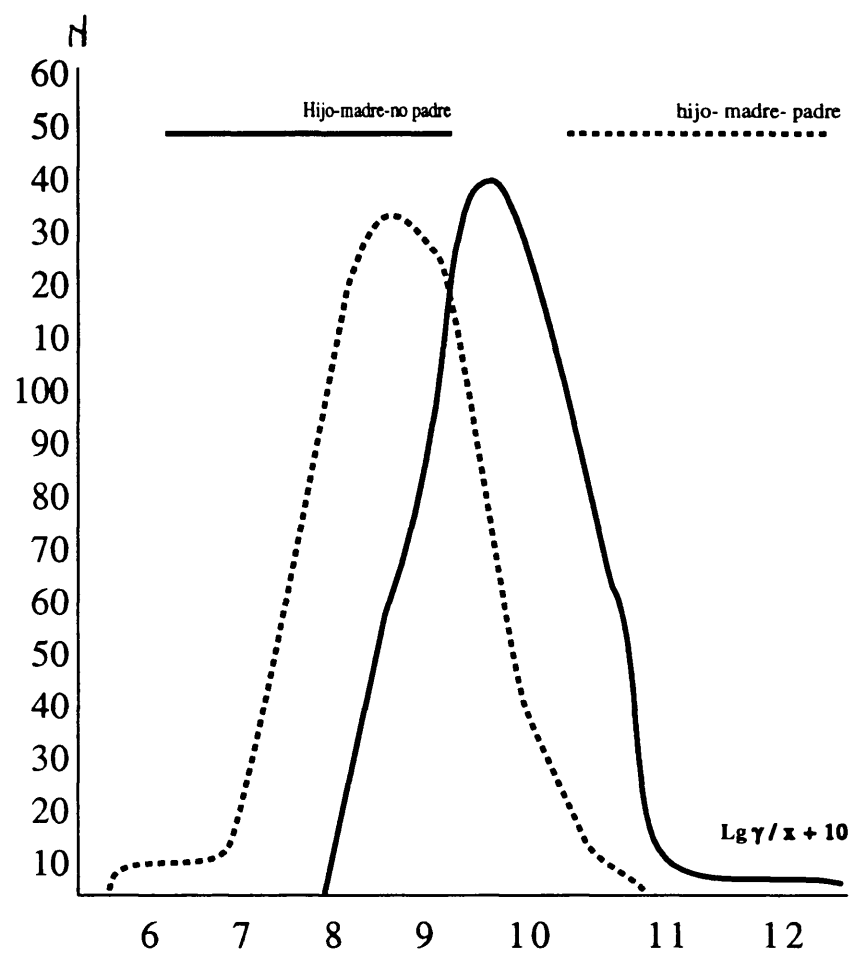
Esto es lo que se refiere a los NO PADRES que no hemos podido excluir y que se nos pueden "colar" como padres verdaderos si no somos muy exigentes.

La única arma en estos casos es el aumento de marcadores para dilucidar el caso.

El otro problema simétrico inverso, es el de varones que son padres verdaderos pero que por tener genotipos "solapados" no alcanzan un índice suficiente de paternidad. Hemos tenido un caso de estos en el que a pesar de la cantidad ingente de sistemas empleados en la 2ª determinación, no se logró subir por encima del 99 %. Hay veces que esos genotipos solapados ocurren en la madre y el niño (como en el caso señalado) y por lo tanto el porcentaje de hombres excluidos tampoco arroja luz.

Por lo tanto ante un genotipo solapado no cabe una sentencia de "no paternidad", pues lo que hay que analizar como causa del poco rendimiento de la prueba es ese genotipo solapado.

En las páginas siguientes mostramos como quedan solapados los 1.028 casos de hijo-madre-padre con los 1029 de hijo- madre falso padre, en la gráfica. Debajo exponemos con valores numéricos los correspondientes casos frente a sus valores de $\log Y / X + 10$ y sus plausibilidades. Las flechas indican los 2 casos de falsos padres más problemáticos. En la siguiente página se expresa muy desarrollados frente a los valores de HUMMEL y sus predicamentos verbales. Finalmente el último esquema indica, para los valores corregidos de la tabla anterior, los casos y sus porcentajes.



Distribución de los valores Essen Möller en 1.028 combinaciones
 Hijo - Madre - Padre y en 1029 combinaciones Hijo- Madre - falso padre

VALORES DE ESSËN MOLLER PARA PADRES Y NO PADRES

LOG. Y / X = 10	PADRES	NO PADRES	PLAUSIBILIDAD
5,6	1		
5,8	5		
6	-		
6,2	3		
6,4	1		
6,6	2		
6,8	2		
7	5		
7,2	9		
7,4	4		
7,6	14		
7,8	19		
8	33	2	94,3 ± 3,9
8,2	40	5	88,9 ± 4,7
8,4	64	8	88,9 ± 3,7
8,6	79	11	87,8 ± 3,5
8,8	128	41	77,3 ± 3,1
9	140	41	77,3 ± 3,1
9,2	124	78	61,4 ± 3,4
9,4	118	124	48,8 ± 4,2
9,6	96	155	38,2 ± 3,1
9,8	80	143	35,9 ± 3,2
10	31	119	20,7 ± 3,7
10,2	23	100	18,7 ± 3,5
10,4	6	76	7,3 ± 2,9
10,6	3	41	6,8 ± 3,8
10,8	-	22	
11	-	6	
11,2	-	4	
11,4	-	6	
11,6	-	12	
11,8		12	
11,0		12	
11,2		13	
11,4		12	
11,6		8	

ORDENACION DE LOS VALORES LG. Y / X+ 10 EN RELACION CON LAS PROBABILIDADES

LG Y / X + 10 Según Hummel (1961)	CORREGIDOS	% DE PLAUSIBILIDAD VERBAL
6.0 6.2 6.4 6.6 6.8 7.0 7.2 7.4 7.6 7.8 8.0	5.4 5.6 5.8 6.0 6.2 6.4 6.6 6.8 7.0 7.2 7.4	99.99 99.98 99.97 99.96 99.94 99.90 99.84 99.75 99.60 99.37 99,01
8.2 8.4 8.6 8.8	7.6 7.8 8.0 8.2	98.44 99.75 96.17 94.06
9.0 9.2	8.4 8.4	90.91 86.32
9.4 9.6 9.8 10.0 10.2 10.4 10.6 10.8 11.0	8.8 9.0 9.2 9.4 9.6 9.8 10.0 10.2 10.4	79.92 71.52 61.31 50.0 38.69 28.47 20.07 13.68 9.09
11.2 11.4	10.6 10.8	3.93 3,83
11.6 11.8 12.0	11.0 11.2 11.4	2.45 1,56 0.99
12.2 12,4 12.6 12.8 13.0	11.6 11.8 12.0 12.2 12.4	0,63 0,39 0.25 0,16 0.09

DEMOSTRADA

muy probable

probable

indefinible

improbable

muy improbable

Practicamente excluida

**DISTRIBUCION DE PADRE Y NO PADRES EN LOS DIVERSOS TIPOS DE
VALORACION CORRESPONDIENTES A LA CORRECCION DE LA TABLA
ANTERIOR**

<u>PATERNIDAD</u>	<u>PADRES</u>	<u>NO PADRES</u>
Demostrada	30 (2, 92 %)	0
Muy probable	66 (6, 42 %)	2 (0,19 %)
Probable	104 (10,13 %)	13 (1,26 %)
Indefinible	825 (80.25 %)	866 (84. 16 %)
Improbable	3 (0,29 %)	63 (6,12 %)
Muy improbable	0	16 (1,56 %)
Excluida	0	69 (6,71 %)

Aunque no estamos a salvo de algún caso conflictivo, gracias al HLA y a la amplia gama de marcadores séricos y enzimáticos que usamos en los casos conflictivos (de todos los casos nos guardamos muestras de hematies y de suero congeladas a - 40°) nuestros casos no solo no muestran ese evidente solapamiento entre los constituidos por verdadero padre y falso padre, sino que los valores Essen Möller, rara vez muestran valores dudosos, tanto entre los verdaderos tripletes (en que el sesgo favorable es hacia valores promedio muy superiores a los de de RITTER) como en los falsos.

En realidad sólo hemos tenido un caso de fenotipos solapados en que no fuimos capaces de subir el valor de Essen Möller por encima del 99 %.

Conforme aumenta la batería de marcadores empleados disminuirá simultáneamente el número de casos sin resolver (excepto si algún consanguíneo del presunto padre está implicado) y se hará realidad la profética predicción de LANDSTEINER, cuando recibió el premio NOBEL, de la individualidad de cada sangre.

Con la incorporación del DNA a esta investigación esos fines estarán más logrados.

CAPITULO VII

JUSTIFICACIÓN DEL TEMA Y RESUMEN

El tema elegido encuentra su justificación en la experiencia que tuve en el laboratorio de Biología Forense en la Escuela de Medicina Legal de la Universidad de Madrid. En muchos aspectos, la Escuela es la pionera en investigación y resoluciones prácticas (a las pericias encomendadas por la Administración de Justicia) en España.

Las dos grandes vertientes de la Biología forense moderna: resolución de los casos criminales a través de los grupos sanguíneos, e investigación de la Paternidad, han sufrido un fuerte incremento.

Por una parte la delincuencia grave se ha disparado, y los crímenes de todo tipo son cosa cotidiana, por desgracia. Por otro lado, desde mayo de 1981, se permite la investigación de la paternidad dentro del matrimonio. Si antes hacíamos una 6 peritaciones, de este tipo, al año (solo tenían repercusión legal las que se referían a casos de violaciones y estupros), hoy día, esa cifra hay que multiplicarla casi por 10, y no podemos atender a la demanda debido a lo complejo de las pruebas y escasez de personal, pero la presión social y jurídica que sufrimos es realmente agobiante.

Y no solo se ha disparado la demanda sino que las pruebas, tanto de paternidad como de tipaje de manchas de sangre, cada día son más complejas, en consonancia a los incesantes avances en este campo. El servicio a la sociedad y a la Justicia es más perfecto cada día, pero ello es a costa de mucho mayor trabajo y la puesta al día, en estos temas, continúa.

Puede decirse que tanto una como otra vertiente están cubiertas a nivel europeo, aunque al principal mérito es de mis colaboradores.

No cabe duda, pues, que el tema es actualísimo, de una gran importancia cívica y por lo tanto más que justificado como materia de una tesis.

Por otra parte en mi servicio seguimos una política clara: todos los temas para becas, tesinas y tesis deben versar sobre aspectos bibliográficos de puesta al día de estas cuestiones, acompañados de experimentación práctica de las técnicas de laboratorio, de utilización en biología forense. Por eso, yo mismo me debía someter a estas exigencias.

La presente Tesis comienza en los albores de transfusión sanguínea y el estudio de toda la bibliografía antigua y moderna en este campo, siguiendo por el estudio de la biografía y obra de los dos pilares de esta ciencia : MENDEL y LANDSTEINER, para entrar en materia específica.

Consta de más de 1000 citas bibliográficas entre el océano de estudios sobre estos temas. creemos que no hemos olvidado así nada importante, excepto en el último capítulo, que deliberadamente se ha hecho más corto, ya que solo los aspectos matemáticos de la investigación de la Paternidad es materia para otra tesis.

Hemos puesto especial énfasis en el estudio de la herencia de los grupos sanguíneos, que no se encuentra ampliamente desarrollada en ningún libro. También hemos recopilado todos los métodos existentes de cálculo de las frecuencias génicas, con aportaciones personales. Aquí hemos sometido a estudios matemáticos varias monografías con los datos publicados por diversos autores (y los 9.967 del autor) para juzgar la bondad de ajuste de los diversos procedimientos.

En los apartados sobre técnicas hemos remarcado la importancia de los aspectos técnicos del tipaje inverso con suero, del empleo de lectinas anti-H y anti-A1 del uso de paneles de sangres A1 y A2 etc. Olvidar detalles específicamente señalados con insistencia por el autor, conduce a la no fiabilidad de los datos aportados por muchos autores. Es un arte llegar a discriminar entre algunos subgrupos A1 y A2 y A int. sobre todo si van unidos al B (subgrupos A B) , pero solo se puede lograr poniendo todo el cuidado técnico y conociendo bien los fundamentos serológicos y genéticos de lo que llevamos entre manos.

En el más amplio capítulo, nos hemos extendido en todas las vicisitudes históricas que llevaron al perfeccionamiento actual de las técnicas, con una puesta al día y aportaciones personales, ya que de nuestro análisis depende, muchas veces, el castigo de un culpable y la libertad de un inocente.

Aunque desconocemos el idioma alemán, hemos transcrito las citas originales, aunque es fácil disponer de todas ellas en inglés a partir de traducciones llevadas a cabo por la sección de Banco de Sangre de Fort Knox, Kentucky, USA 40121, principalmente. también muchos trabajos históricos de BERNSTEIN, LANDSTEINER, SCHIFF etc. pueden encontrarse en las traducciones de STERN y CAMERON. En muchos aspectos he puesto al día una síntesis de los descubrimientos principales en la herencia de los grupos sanguíneos.

Se me puede acusar de que la monografía de MENDEL no viene muy al hilo del tema de la Tesis. A esto respondo que no solo la he comentado por ser la piedra angular de la genética, y los grupos sanguíneos se han mostrado como los marcadores genéticos prototípicos de la herencia Mendeliana, y sus aplicaciones a los dos grandes aspectos de la tesis (criminalísticos y de investigación de la paternidad) tienen su base en las Leyes de Mendel, sino porque es un modelo de experimentación científica insuperable para cualquier investigador. Además la Ley de Hardy-Weinberg, de tanta aplicación en inmunohematología y genética de poblaciones, está expresada en dicho trabajo del fraile agustino, sin que nadie, que yo sepa, la haya reivindicado. Igualmente, no solo las frecuencias esperadas en la descendencia de cualquier tipo de matrimonio (en lo referente a marcadores sanguíneos) se deducen obligadamente a partir de las Leyes de MENDEL, sino que en el uso de los marcadores físicos en estudio de paternidad, las Leyes de Mendel y su modo de herencia es el punto de referencia obligado.

Después de muchos titubeos he omitido el estudio estadístico de probabilidades de exclusión que ofrecen los grupos ABO, a partir de la casuística propia de algo más de un centenar de investigaciones de Paternidad, debido a que el sesgo con que se presentan, en cuanto a frecuencia, "verdaderos padres" y "falsos padres" en los casos analizados, inclinan descaradamente la balanza a favor de que el acusado resulta ser con mucha frecuencia el verdadero padre.

Por ello las probabilidades "a priori" no son del 50% en mi laboratorio. En resumen si hemos analizado 100 casos, por ejemplo, no disponemos de 50 familias donde hay exclusión de paternidad, y en esas familias estudiar en cuantas no ha habido exclusión por el ABO. El número de P. padres excluidos ha resultado bastante más bajo, y a partir de ese número no tiene significación deducir la 'potencia' de exclusión que suministran los grupos sanguíneos ABO. No obstante en 38 casos de exclusión analizados, los grupos ABO excluían (siempre acompañados por otros marcadores que también excluían, sobre todo por el HLA) en 7,10 cual coincide casi con el 18,5 % teórico de exclusión.

Quizás haya algo de picaresca en el sesgo observado: antes cuando se analizaban pocos marcadores sanguíneos, las probabilidades que tenía un inocente en no poder demostrar su inocencia (es decir en no ser excluido por el análisis) eran de un 30 - 40%, y paralelamente las probabilidades de paternidad positiva que se asignaba a un verdadero padre eran bajas, por lo que los pillos venían al análisis sabiendo que el resultado no era concluyente.

Hoy día, merced a programas de TV y a artículos en periódicos, todo el mundo, que viene al análisis, sabe que cuando un hombre es el verdadero padre, el análisis lo señala con gran fuerza. Aunque muchos verdaderos padres intentan eludir el análisis, se someten a él porque sus pretextos para esquivarlos carecen de fuerza en el juzgado, y si se niegan el Juez pronuncia una sentencia que les es desfavorable.

Las madres que cuidan muy mucho (excepto en caso con presunto padre fallecido) de señalar como padre a uno que casi están seguras que es inocente, pues las pruebas las han de sufragar ellas y casi, en todas las ocasiones, demostraríamos la inocencia del hombre. Por ello cuando señalan a uno lo hacen con bastante "puntería", tratándose casi siempre del verdadero padre, con lo que desciende el porcentaje de los excluidos. Muchos verdaderos padres ante la seguridad de la analítica actual renuncian también a someterse a la prueba y reconocen al niño.

Por esas razones hemos omitido aquí un estudio analítico de lo que nos rinde el sistema ABO en nuestros casos de exclusión, y con mucha más razón hemos evitado cualquier simulacro estadístico sobre los distintos procedimientos de fenotipados en manchas de sangre, ya que la índole de los casos estudiados no se presta a ello. Si hemos hecho un estudio comparativo muy completo, según nuestra experiencia, de la bondad de cada técnica y sus indicaciones particulares. También hemos puesto énfasis en estudiar la sensibilidad y especificidad de los mismos. Todo lo demás, son a mi juicio, especulaciones que no tienen sentido.

Me he extendido todo lo que he podido (aunque la experiencia que me aportó alguno de los incontables casos analizados haya podido ser olvidada) en la descripción de todas las pegadas y trampas con que se suele tropezar el serólogo forense en el desarrollo de su trabajo.

No he hecho un resumen caso por caso ya que la diferencia cualitativa y cuantitativa entre unos y otros escapa de toda medición. He tenido casos, como el de un homicidio con un hacha muy usada, con tenues manchas de sangre en el mango de madera, que me obligaron a hacer hasta 100 test , y diversas técnicas, ya que la saliva de los distintos hombres que la emplearon al cabo de tantos años, interfería el análisis. En contraste, hay casos en que una minúscula mancha de sangre en un proyectil permitió el tipaje en 10 minutos de la técnica de LATTES, llevándose el resultado el mismo policía que trajo la bala, pues el test duró lo que le llevó fumarse un cigarrillo.

Es por ello imposible pretender dar resultados sumarios de los distintos casos y las distintas teorías.

Un resumen de los hallazgos de la presente tesis nos llevaría a repasar varios capítulos y resumir los pros y los contras de cada técnica y cada hallazgo que ya estan al final de cada capítulo, con lo que nos repetiríamos sin poder concretar lo que pide un resumen, ya que la índole de los casos y circunstancias son de enorme variabilidad.

Lo que si debe quedar claro son las condiciones del Perito en todas estas materias:

Aqui falla el dicho "La medicina está en los libros".

Es cierto que la base previa obligada es una formación segura en los estudios de genética y serología que vamos a usar. Esto es insustituible. La seguridad que proporcionan unos buenos reactivos o específicos antisueros, no puede suplantar la experiencia del biólogo forense, pero un buen perito no puede funcionar con malos reactivos. La diferencia entre ambos parangonismos es bastante sutil pero clara: con buenos reactivos pero sin conocimientos profundos en las pocas bases fundamentales que necesitamos, nos llevaría a equivocaciones a la vuelta de la esquina. Contrariamente con malos reactivos pero con la debida formación, el Perito sabe que aquello no funciona y trata de evitarlo sin caer en la trampa de la equivocación.

Poe ello hace falta como mínimo un entrenamiento de 5 años para trabajar con seguridad en la mayoría de las técnicas, que esta tesis describe, y aprender al lado de un perito experto. De todas maneras ningún Perito del mundo está capacitado para usar, el solo, todas las técnicas de la biología forense. Solo debe acometer aquellas técnicas en las que tenga experiencia.

Es necesario el trabajo en equipo, pero un equipo muy bien integrado, con conocimientos, al menos tangenciales, de lo que hacen los demás.

En muchos aspectos (sobre todo en el tipamiento de las manchas de sangre) además de ciencia hay que tener arte.

CAPITULO VIII

**APENDICE: TABLAS DE
FRECUENCIAS GÉNICAS.
CASOS DE PATERNIDAD
RESUELTOS.
AMPLIACIÓN DE
BIBLIOGRAFÍA.**

FRECUENCIAS GÉNICAS

<p>FOSFOGLUCOMUTASA -1- PGM₁</p> <p>PGM¹⁺ = 0.621 PGM¹⁻ = 0.114 PGM²⁺ = 0.211 PGM²⁻ = 0.054</p>	<p>FOSFATASA ACIDA - 2 - ACP</p> <p>ACP^a = 0.278 ACP^b = 0.656 ACP^c = 0.036</p>	<p>ESTERASA . D - 3 - ESD</p> <p>ESD 1 = 0.860 ESD 2 = 0.120 ESD 5 = 0.020</p>
<p>ADENOSINDESAMINASAS- 4 - ADA</p> <p>ADA¹ = 0.950 ADA² = 0.050</p>	<p>ADENILTIOQUINASA - 5- AK</p> <p>AK¹ = 0.961 AK² = 0.034</p>	<p>6 FOSFOGLUCONATO -6- DESHIDROGENASA 6-PGD</p> <p>6 PGD^a = 0.022 6 PGD^c = 0.978</p>
<p>GLUCOSA -6- P. -7- DESHIDROGENASA Gd</p> <p>Gd^N = 0.990 Gd^d = 0.010</p>	<p>AMINOLEVULINATO - 8 - de HIDRASA ALA DH</p> <p>ALADH¹ = 0.900 ALADH² = 0.100</p>	<p>FOSFOGLICOLATO - 9 - FOSFATASA PGP</p> <p>PGP¹ = 0.928 PGP² = 0.046 PGP³ = 0.026</p>
<p>GLIOXALASA - 10 - GLO</p> <p>GLO¹ = 0.423 GLO² = 0.577</p>	<p>TRASAMINASA -11- GLUTAMITO PIRUVICA GPT</p> <p>GPT¹ = 0.508 GPT² = 0.492</p>	<p>GALACTOSA - 1 - P -12- URIDIL TRANSFERASA</p> <p>GT¹ = 0.961 GT² = 0.039</p>
<p>URIDIN - MONO - 13 - FOSFOQUINASA UMPK</p> <p>UMPK¹ = 0.989 UMPK² = 0.011</p>	<p>ALFA - 1 - ANTI - TIRPSINA - PI -14- Pi M1 = 0.660 Pi M2 = 0.115 Pi M3 = 0.060 Pi S = 0.149 Pi Z = 0.009 Pi F = 0.005</p>	<p>PROTEINAS - GC. - 15 -</p> <p>GC^{1S} = 0.572 GC^{1F} = 0.120 GC² = 0.308</p>
<p>TRANSFERRINA - 16 - TF</p> <p>TF C1 = 0.770 TF C2 = 0.172 TF C3 = 0.041 TF B = 0.010</p>	<p>FRACCION -C3 -17- DEL COMPLEMENTO C3</p> <p>C3^S = 0.784 C3^F = 0.216</p>	<p>PROACTIVADOR C3 - 18 - Bf</p> <p>Bf FI = 0.092 Bf FII = 0.070 Bf s = 0.820 Bf F1 = 0.009 Bf S07 = 0.006</p>

HAPTOGLOBINAS - 19 - HP HP 1 = 0.459 HP 2 = 0.541	AMILASA SERICA - 20- AMy ¹ ₂ = 0.980 AMy ² ₂ = 0.020	OROSOMUCOIDE -21- Ors Ors ^{1f} = 0.448 Ors ² = 0.552
PSEUDOCOLINESTE - 22 - RASA LOCUS E ₁ E ₁ ^u = 0.973 E ₁ ^a = 0.027	COMPONENTE C5 -23- C5+ = 0.094 C5- = 0.906	INMUNOGLOBULINAS -24- Gm ¹ = 0.482 Gm ² = 0.162
XIII a ¹ = 0.75 - 25 - XIII a ² = 0.25 XIII b ¹ = 0.75 XIII b ² = 0.10 XIII b ³ = 0.15	PLASMINOGENO -26- PLG PLG 1 = 08	α ₂ Hs a 2 Hs1 = 0.7147 -27- a2NHs2 = 0.2770 a2Hs3 = 0.00613 a2Hs10 = 0.001 a2Hs11 = 0.001
GALT - 28 - GALT ^N = 0.93016 GALT ¹ = 0.04469 GALT ² = 0.02513	HAPTOGLOBINAS -29- SUBTIPADAS HP 1F = 0.168 1S = 0.232 2FS = 0.552 2SS = 0.028 2FF = 0.020	-30- A1 = 0.21 - A2 = 0.07 B = 0.06 - 0 = 0.66
R ¹ = 0.41 - r = 0.39 - 31 - R ² = 0.14 - R ⁰ = 0.03 R ^Z = 0.002 - r' = 0.01 r'' = 0.81	-32- MS = 0.24 - Ms = 0.28 NS = 0.08 - Ns = 0.40 K = 0.05 - K̄ = 0.95 P ¹ = 0.54 - P ² = 0.46 Fy ^a = 0.43 - Fy ^b = 0.56	-33- JK ^a = 0.51 - JK ^b = 0.49 Lu ^a = 0.04 - Lu ^b = 0.96 Le ^a = 0.82 - Le ^b = 0.18 Xg ^a = 0.66 - Xg ^b = 0.34 Se = 0.52 - Se = 0.48 Co ^a = 0.96 - Co ^b = 0.04

REPORT OF PATERNITY TESTING

Table 1. Paternity Indexes of Different ABO Phenotypes*

Phenotype		Child's Gene from		PI of the Alleged Father for a Given Phenotype†					
Child	Mother	Mother	Father	O	A ₁	A ₂	B	A ₁ B	A ₂ B
O	O, A ₁ A ₂ , B	O	O	1.52 (1.43)	.60 (.51)	.72 (.59)	.72 (.56)		
A ₁ A ₂ , B	O, A ₁ , B B, A ₁ , B	O	A ₁		2.75 (4.60)			2.45 (4.31)	
A ₁	A ₁	A ₁ or A ₂ or O	A ₁ or A ₂ or O	.91 (1.02)	1.32 (1.50)	.91 (1.02)	.44 (.47)	.82 (.96)	.46 (.51)
A ₁	A ₁ B	A ₁	A ₁ or A ₂ or O	1.07 (1.14)	1.07 (1.14)	1.07 (1.14)	.51 (.53)	.54 (.57)	.54 (.57)
A ₁ A ₂ , B	O, B A ₁ B, B	O B	A ₂ A ₂		.50 (.62)	.749 (.839)			.713 (.855)
A ₂	A ₁	A ₂ or O	A ₂ or O	.74 (.70)	.50 (.61)	.421 (.38)	.35 (.33)		.367 (.437)
A ₂	A ₂	A ₂ or O	A ₂ or O	1.25 (1.23)	.61 (.51)	1.35 (1.32)	.60 (.57)		1.19 (1.18)
A ₂	A ₂ B	A ₂	A ₂ or O	1.37 (1.32)	.50 (.61)	1.37 (1.32)	.65 (.59)		.58 (.56)
B A ₁ B A ₂ B	O, A ₁ , A ₂ A ₁ A ₂ , A ₂	O A ₁ A ₂	B B B				.796 (4.34)	.750 (4.01)	.760 (4.01)
B	B	B O	B or O	1.29 (1.07)	.52 (.45)	.51 (.52)	1.38 (1.57)	1.21 (.99)	1.21 (.99)
B	A ₁ B, A ₂ B	B	B or O	1.58 (1.21)	.55 (.52)	.65 (.58)	1.33 (1.21)	.59 (.51)	.67 (.51)
A ₁ B	A ₁ B	A ₁ B	B A ₁		2.08 (2.22)		1.94 (2.25)	.571 (4.13)	1.35 (2.07)
A ₂ B	A ₂ B	A ₂ B	B A ₂		.32 (.70)	3.36 (2.34)	3.35 (2.95)	3.58 (2.73)	7.35 (5.45)

* White, n = 1,065; Michigan; blacks, 1,146; San Francisco; reference (2), p. 139. Blank indicates nonpaternity.

† Numbers in parentheses are values for the black population; numbers without parentheses are for the white population.

Table 2. Paternity Indexes of Different MNSs Phenotypes in a White Population*

Phenotype		Haplotype from Father	PI of the Alleged Father of a Given Phenotype								
Child	Mother		MS	Ms	MSs	NS	Ns	NSs	MNS	MNs	MNSs
MS MSs MNS MNSs	MS, MSs, MNS, MNSs Ms, MNS NS, NSs Ns	MS	4.04		2.02				2.02		1.65
MS MSs MNS MNSs	NS, NSs, MNS, MNSs Ns, MNS MS, MSs Ms	NS				14.47		7.24	7.24		1.31
MS MSs MNS MNSs	Ms, MSs, MNS, MNSs MS, MNS Ns, NSs NS	Ms		3.26	1.63					1.63	.29
NS NSs MNS MNSs	Ns, NSs, MNS, MNSs NS, MNS Ms, MSs MS	Ns					2.65	1.33		1.33	1.09
MNS MNSs	MNS MNs	MS or NS	3.16		1.58	3.16		1.58	3.16		1.58
MNs MNSs	MNs MNS	Ms or Ns		1.46	.73		1.46	.73		1.46	.73
MSs MNSs	MSs NSs	MS or Ms	1.81	1.81	1.81				.91	.91	.91
NSs MNSs	NSs MSs	NS or Ns				2.24	2.24	2.24	1.12	1.12	1.12
MNS MNSs	MNSs	MS or NS	1.78		.89	8.10		4.05	4.94		1.46
MNs MNSs	MNSs	Ms or Ns		2.57	1.29		.56	.28		1.57	.46
MSs MNSs	MNSs	MS or Ms	.61	2.77	1.59				.30	1.39	.50
NSs MNSs	MNSs	NS or Ns				6.58	1.44	4.01	3.29	.72	1.15
MNSs MNSs	MNSs	MS or Ms or NS or Ns	1.41	.31	.86	.31	1.41	.86	.86	.86	1.22

* San Francisco, $p = 8.992$, reference 12, p. 307. Blank indicates nonpaternity.

Table 8. Paternity Indexes of Two Dominant Allele Systems with Known Genotypes*

Genetic Marker Systems	Genotype		Gene Re-quired From Father	PI of the Alleged Father of Genotype								Refer-ence
	Child	Mother		Whites				Blacks				
				GF	$\frac{aa}{KK}$	$\frac{ab}{K\bar{K}}$	$\frac{bb}{\bar{K}\bar{K}}$	GF	$\frac{aa}{aa}$	$\frac{ab}{aa}$	$\frac{bb}{aa}$	
Erythrocytic antigens Kell	$\frac{KK, K\bar{K}}{\bar{K}\bar{K}, K\bar{K}}$	$\frac{KK, KA, KK}{KA, K\bar{K}, KK}$	$KI = a$ $II = b$.045 .955	22.22	11.11 .52	1.35	.0038 .9962	.253	.132 .60	1.0	12 p 532
Fy	$\frac{aa, ab}{bb, ab}$	$\frac{aa, ab, bb}{bb, ab, aa}$	a b	.3558 .6442	2.59	1.30 0.81	1.63		See Table 5			12 p 591
Jk	$\frac{aa, ab}{bb, ab}$	$\frac{aa, ab, bb}{bb, ab, aa}$	a b	.3350 .6640	1.87	.93 1.08	2.16	.7425 .2574	1.35	.57 .94	3.39	12 p 501
Plasma proteins Gc	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.7155 .2845	1.40	.70 1.76	3.32	.8924 .1076	1.12	.56 4.65	9.30	12 p 692
Hp	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.4169 .5831	2.40	1.20 .36	1.72	.5500 .4500	1.32	.91 1.11	2.22	12 p 654 p 657
Tf	$\frac{CC, CD}{DD, CD}$	$\frac{CC, CD, DD}{DD, CD, CC}$	$CI = a$ $DI = b$		See Table 9			.9973 .0007	1.00	.50 .714	1429	12 p 677
Glm	$\frac{aa, af}{ff, af}$	$\frac{aa, af, ff}{ff, af, aa}$	$aI = a$ $fI = b$.2240 .776	4.46	2.23 .64	1.29	.5710 .4290	1.13	.57 3.83	7.75	14
Km	$\frac{1:1-3}{3:1-3}$	$\frac{1:1-3:3}{3:1-3:1}$	$II = a$ $II = b$.1060 .8940	2.43	4.72 .56	1.12	.3000 .7000	3.33	1.67 .71	1.43	14
Erythrocytic enzymes PCN ₁	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.7520 .2480	1.33	.66 2.02	4.03	.3089 .6911	1.24	.62 2.62	5.23	12 p 765
PGD	$\frac{AA, AB}{BB, AB}$	$\frac{AA, AB, AA}{BB, AB, BB}$	$AI = a$ $BI = b$.9760 .0240	1.03	.51 20.84	41.67	.9645 .0355	1.04	.52 14.08	28.16	12 p 756
GPT	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.4960 .504	2.02	1.01 .99	1.98	.5140 .4860	1.23	.61 2.55	5.10	1
ExD	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.9020 .0980	1.11	.55 5.10	10.20	.9020 .0980	1.11	.56 5.10	10.20	3
GLO	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.4270 .5730	2.34	1.17 .87	1.75		Not available			6
ADA	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.9524 .0476	1.05	.53 10.50	21.01		See Table 9			12 p 784
AK	$\frac{1:1-2}{2:1-2}$	$\frac{1:1-2:2}{2:1-2:1}$	$II = a$ $II = b$.9724 .0276	1.03	.51 18.12	36.23		See Table 9			12 p 771

* Rare alleles are not included. When the mother and the child are both heterozygous, the paternity index for every phenotype is 1, and is not included. GF = gene frequency.

Table 4. Paternity Indexes for Different Rh Phenotypes in a White Population*

Phenotype		Haplotype that Must Come from Father	PI of Alleged Father of a Given Population									
Child	Mother		DCeEe 1	DCee 2	DCeEe 3	DcEe 4	DCe 5	DcE 6	Dce 7	dce 8	dCEe 9	dCee 10
3	1,2,4,7-10	R ⁺			50							
1	3,7,8	R ⁺	2.94									
2,5	3,9,10	R ⁺	1.04	1.05			2.11					
1	9	R ⁺ , R ⁺	1.05	1.95			2.10					
5,1	1,2,5,6	R ⁺ , r ⁺	1.04	1.05			2.11					
2	3,4,7	R ⁺	1.04	1.08			2.11					1.02
10	3,4,7,8,9	r ⁺	.91	.07			1.96					.09
7	8,9,10	R ⁺	.02	1.41	1.41	1.41			17.58			33.7
2	10	R ⁺ , R ⁺	.99	1.10	.09	.09	1.98		1.07			
4	9	R ⁺ , R ⁺	2.73	.26	.26	3.36	5.54		3.17			
4,6	8,10,9	R ⁺	3.33			3.67		6.77				
1	10	R ⁺ , R ⁺	3.33			3.62		6.58				
6	4	R ⁺ , r ⁺	3.34			3.38		6.75			3.35	
4	2,3		3.33			3.64		6.76			.31	
3	7		5.25			3.49		6.73			1.33	
6	1,5		3.32			3.37		6.70			3.07	
1	5		3.32			3.36		6.70			3.26	
1	5		3.31			3.31		6.62			3.31	
9	2,3,7,8,10	R ⁺ , R ⁺ , R ⁺ , Y ⁺	3.17			.35		6.07			34.48	
8,10	1-4,7-10,5	r ⁺	.01	1.37	1.37	1.37			1.42	2.99	1.49	1.4
2	5	r ⁺ , R ⁺	.01	1.37	1.37	1.37			2.78	2.74	1.37	1.3
4	6		.01	1.37	1.37	1.37			2.86	2.72	1.35	1.3
7	7		.01	1.37	1.37	1.37			3.73	2.55	1.23	1.2
7	1		.01	1.39	1.39	1.39			8.64	1.65	.83	.8
4	2,3,4		.01	1.39	1.39	1.39			9.72	1.45	.73	.7
3	5	r ⁺ , R ⁺ , R ⁺	.01	1.34	2.67	1.34			2.67	2.67	1.34	1.3
10	1	r ⁺ , Y ⁺	.02	1.36	1.36	1.36	.02		1.43	2.95	1.43	1.9
10	10		.05	1.31	1.31	1.31	.08		1.37	2.87	1.42	2.5
10	2		.87	.12	.06	.06	1.37		.05	.13	.07	32.2
2	1	r ⁺ , Y ⁺ , R ⁺ , R ⁺	.02	1.37	1.36	1.36	.02		2.75	2.71	1.35	1.3
2	2		.59	1.21	.60	.60	1.38		1.21	1.21	.60	.6
1	4	R ⁺ , R ⁺ , R ⁺ , Y ⁺	1.05	1.05			2.10					1.0
4	1	R ⁺ , r ⁺ , R ⁺ , r ⁺	.02	1.37	1.37	1.37		.003	2.86	2.71	1.37	1.3
4	4		.92	.93	.93	1.93		1.35	2.00	1.99	2.00	1.3
9	1	r ⁺	.02	1.36	1.36	1.36		.02	1.42	2.98	1.62	1.4
9	9		.14	1.31	1.31	1.31		.25	1.37	2.86	2.86	1.4
9	4		2.56	.26	.26	.54		4.89	.27	.56	28.09	.5
1	1	All but R ⁺	1.58	1.81	.01	.81	2.03	1.69	.02	.02	.79	.0

* New York City, N. Y. 1959 reference 12, p. 485.

Table 7. Paternity Indexes of Genetic Markers Often Used Alone or Without a Demonstrable Allele

Genetic Marker	Phenotype of		Gene of Child from		Paternity Index of the Alleged Father						Reference
	Child	Mother	Mother	Father	Gene Frequency	Whites		Gene Frequency	Blacks		
						+	-		+	-	
Kell	-	-	k	K	.045	11.37	0	.0038	131.83	0	12
	-	-,-	k	k	.955	.51	1.05	.9962	.5	1	p 532
	-	-	K,K	K,k		1.45	.96		1.49	1	
Js ^a	-	-	b	a	0			.1031	5.11	0	12
	-	-,-	b	b	0			.8969	.53	1.12	p 532
	-	-	a,b	a,b					1.39	.92	
Fy ^a DUFF	+	-	non-a	a	.3858	1.61	0	.0809	6.44	0	12
	-	-,-	non-a	non-a	.6142	.62	1.63	.9191	.52	1.09	p 543
	-	-	a,non-a	a,non-a		1.23	.81		1.41	.93	
Jk ^a	-	-	b	a	.5360	1.27	0	.7426	1.07	0	12
	-	-,-	b	b	.4640	.68	2.16	.2574	.80	3.39	p 601
	-	-	a,b	a,b		1.19	.80		1.14	.84	
Pi	-	-	non-P ₁	P ₁	.65	1.14	0	.29	2.02	0	11
	-	-,-	non-P ₁	non-P ₁	.35	.74	2.36	.71	.59	1.41	p 129
	-	-	P ₁ ,non-P ₁	P ₁ ,non-P ₁		1.16	.81		1.27	.53	
L _u ^a	-	-	h	a	.0335	15.18	0	.0243	20.83	0	12
	-	-,-	h	h	.9665	.51	1.03	.9757	.51	1.03	p 515
	-	-	a,h	a,h		1.46	.97		1.47	.93	
Xg ^a	-	-	non-a	a	.6709	1.49	0	.5496	1.32	0	12
	-	-,-	non-a	non-a	.3291	0	3.04	.4504	0	2.22	p 63
	-	-	a,non-a	a,non-a		1.09	.82		1.16	.80	
LEWIS:Se	-	-	se	Se	.2957	1.34	0	.4715	1.39	0	12
	-	-,-	se	se	.5043	.67	1.98	.5285	.55	1.59	p 552
	-	-	Se,se	Se,se		1.20	.80		1.21	.80	p 552
Gm ^a	-	-	non-a	a	.2440	2.51	0	.8596	1.02	0	14
	-	-,-	non-a	non-a	.7760	.56	1.29	.1304	.59	7.67	
	-	-	a,non-a	a,non-a		1.31	.85		1.09	.90	
Kmi ^a	+	-	non-l	l	.1060	4.98	0	.3000	1.96	0	14
	-	-,-	non-l	non-l	.8940	.53	1.12	.7000	.59	1.43	
	-	-	l,non-l	l,non-l		1.39	.91		1.27	.83	

^a For female children only

TABLA DE FRECUENCIAS DE APTOTIPOS POR MIL EJEMPLO →

→ A187 = 32.75 % = 0.3275

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34
B5	4.27	0.14	20.65	3.36	7.29	6.97	1.32	5.66	2.59	0.97	1.43	0.19	8.05	4.75	1.18	0.75	3.99	2.15	0.57	4.04														
B51	1.97	0.10	18.06	2.87	6.12	5.75	1.07	4.69	1.85	0.75	0.96	0.15	5.41	4.09	0.84	0.54	3.55	1.75	0.41	0.71														
B52	1.98	0.03	1.29	0.38	0.91	0.98	0.20	0.79	0.59	0.17	0.39	0.04	2.51	0.54	0.26	0.16	0.37	0.63	0.12	0.24														
B7	7.04	0.23	32.75	3.11	49.82	14.64	0.99	13.67	3.84	1.05	2.48	0.30	3.89	4.13	2.89	1.06	3.05	2.89	0.80	3.16														
B8	70.35	0.18	10.07	1.56	2.54	4.87	1.09	3.78	2.60	1.03	1.26	0.31	1.62	2.05	1.11	0.91	1.14	3.10	0.86	1.16														
B12	9.07	0.28	68.71	7.06	7.33	14.47	6.69	7.80	6.50	2.46	3.65	0.38	5.39	3.90	22.08	1.26	2.65	3.35	1.06	4.06														
B44	8.18	0.26	66.75	6.80	6.68	13.78	6.53	7.25	5.64	2.32	2.97	0.35	4.95	3.51	20.32	1.11	2.40	5.11	0.93	3.76														
B45	0.89	0.02	1.96	0.26	0.65	0.68	0.14	0.55	0.86	0.15	0.68	0.03	0.44	0.39	1.76	0.15	0.25	0.24	0.13	0.15														
B13	1.38	0.04	5.91	0.75	1.01	1.80	0.34	1.46	0.81	0.28	0.47	0.06	0.93	4.48	0.42	4.09	0.39	0.62	0.19	0.85														
B14	1.96	0.08	4.23	3.42	6.69	2.44	0.50	1.94	2.82	0.49	2.22	0.11	1.58	1.53	1.63	0.59	0.93	3.06	6.77	0.62														
B15	5.53	0.12	27.63	1.10	5.64	8.83	0.61	8.22	2.06	0.97	0.93	0.15	2.09	1.84	0.83	0.64	1.20	1.90	0.40	2.48														
B16	3.80	0.11	7.13	2.00	3.84	6.26	0.77	5.49	11.27	1.47	9.67	0.13	1.50	2.25	1.10	0.63	1.62	1.23	0.50	2.09														
B38	2.11	0.06	3.12	1.40	2.11	1.52	0.50	1.02	9.12	0.34	8.71	0.07	0.76	0.84	0.68	0.36	0.48	0.57	0.28	1.63														
B39	1.69	0.05	4.01	0.60	1.72	4.74	0.27	4.48	2.15	1.14	0.96	0.06	0.75	1.41	0.42	0.27	1.25	0.66	0.22	0.46														
B17	19.46	0.09	11.68	0.94	2.00	2.28	0.58	1.70	1.82	0.74	0.97	0.12	1.16	2.06	0.96	0.87	1.19	1.28	0.73	0.74														
B18	2.43	0.09	8.83	0.91	3.69	5.68	0.48	5.20	7.67	6.73	0.82	0.11	1.83	5.29	0.70	4.17	1.13	1.09	0.37	1.19														
B21	2.14	0.06	8.87	0.72	2.24	4.51	2.89	1.62	1.69	0.40	1.20	0.10	1.13	1.51	0.65	0.93	0.59	0.67	0.35	0.79														
B21) B49	1.10	0.03	2.67	0.38	1.49	3.29	2.46	0.83	1.15	0.22	0.89	0.05	0.71	0.83	0.36	0.51	0.32	0.35	0.18	0.53														
(*) B50	1.04	0.03	6.20	0.34	0.75	1.22	0.43	0.80	0.54	0.18	0.31	0.05	0.43	0.68	0.29	0.42	0.26	0.32	0.16	0.27														
B22	2.74	0.05	3.82	2.02	1.79	3.67	0.35	3.31	2.15	0.40	1.67	0.07	4.64	0.92	0.56	0.35	0.57	0.83	0.26	1.06														
B55	2.15	0.04	3.00	1.59	1.41	2.88	0.28	2.60	1.69	0.31	1.31	0.06	3.65	0.72	0.44	0.26	0.44	0.65	0.20	0.95														
B56	0.59	0.01	0.82	0.43	0.38	0.79	0.07	0.71	0.46	0.09	0.36	0.01	0.99	0.20	0.12	0.09	0.13	0.18	0.06	0.26														
B27	2.37	0.08	11.65	1.53	3.99	4.41	0.46	3.95	4.79	0.65	4.01	0.13	2.81	3.18	0.69	0.52	2.66	1.97	0.35	4.12														
B35	6.30	0.18	14.25	3.63	21.40	13.99	1.36	12.64	3.55	1.58	1.74	0.23	16.06	4.25	1.74	0.95	3.30	3.07	0.99	3.45														
B37	1.87	0.01	0.70	0.16	0.38	0.38	0.08	0.31	0.27	0.08	0.17	0.02	0.20	0.21	0.13	0.08	0.13	0.15	0.06	0.17														
B40	3.26	0.14	30.66	4.09	5.04	8.48	0.73	7.75	2.61	1.11	1.28	0.22	2.53	6.55	0.94	0.74	5.81	4.57	0.54	1.28														
B42	0.20	0.01	0.34	0.06	0.17	0.16	0.03	0.13	0.10	0.04	0.06	0.01	0.09	0.08	0.05	0.03	0.05	0.06	0.02	0.05														
B54	0.29	0.01	0.48	0.19	0.25	0.27	0.05	0.22	0.21	0.05	0.15	0.01	0.15	0.12	0.08	0.05	0.07	0.08	0.04	0.07														
B41	2.98	0.06	5.20	0.80	2.32	2.32	0.46	1.92	1.00	0.38	0.78	0.12	1.28	3.02	0.76	0.48	0.54	0.90	0.34	0.43														
B63	0.76	0.02	5.73	0.59	0.60	1.21	0.56	0.65	0.54	0.21	0.30	0.03	0.45	0.32	1.84	0.11	0.22	0.45	0.09	0.22														
B47	1.12	0.02	2.08	0.32	0.93	0.88	0.18	0.70	0.46	0.15	0.31	0.05	0.47	0.88	0.20	0.14	0.17	0.26	0.11	0.17														
B48	1.49	0.03	2.60	0.40	1.16	1.10	0.28	0.82	0.56	0.18	0.37	0.06	0.59	1.40	0.38	0.24	0.27	0.45	0.06	0.23														
B53	2.68	0.05	4.68	0.72	2.09	2.14	0.41	1.73	1.01	0.34	0.67	0.11	1.06	2.52	0.68	0.43	0.47	0.81	0.13	0.39														
B57	14.16	0.07	8.62	0.70	1.48	1.68	0.41	1.25	1.34	0.55	0.72	0.09	0.86	1.53	0.72	0.64	0.88	0.94	0.55	1.33														
B58	5.10	0.02	3.06	0.24	0.52	0.60	0.15	0.45	0.48	0.18	0.25	0.03	0.30	0.53	0.26	0.23	0.31	0.34	0.18	0.47														
B59	1.49	0.03	2.59	0.39	1.17	1.09	0.27	0.83	0.56	0.18	0.37	0.06	0.58	1.41	0.39	0.25	0.26	0.45	0.06	0.22														
B60	2.17	0.09	20.17	2.73	3.36	5.65	0.49	4.71	1.74	0.74	0.85	0.13	1.54	3.98	0.57	0.45	3.53	3.05	0.36	1.47														
B61	1.09	0.05	10.45	1.34	1.68	2.83	0.24	3.04	0.87	0.37	0.43	0.09	0.99	2.57	0.37	0.29	2.28	1.52	0.18	4.73														
B62	8.31	0.26	11.18	6.47	6.73	13.26	6.11	7.15	5.96	2.25	3.35	0.35	4.94	3.58	20.25	1.15	2.43	4.90	0.97	2.28														
BY	7.81	0.10	14.49	2.17	5.89	4.59	0.79	3.81	5.71	2.08	3.40	0.14	2.06	1.82	8.80	1.05	0.77	1.66	0.41	0.80														

ILMO. SR.:

D. D.N.I.
con domicilio en calle/Plaza nº
Localidad C. Postal.....
Teléfono y,
Dº D.N.I.
con domicilio en calle/Plaza nº
LocalidadC. Postal
Teléfono

S O L I C I T A N A V. I.:

Se investigue la paternidad biológica de D.
sobre su presunto hijo/a
nacido el día de de en
Acompañan a la presente solicitud las fotocopias de sus respectivos D.N.I. y/o del Libro de Familia
o Pasaporte. Si el niño fuera menor de 18 años, debo acompañar 4 fotografías tamaño carnet.

Los abajo firmantes nos **COMPROMETEMOS** a presentarnos el día y hora señalados
junto con el niño para la realización de la prueba, conocedores de los graves perjuicios económicos
que ocasionaría nuestra no comparecencia .

HEMOS SIDO INFORMADOS DE:

1º.- Que el precio actual fijado por el Rectorado es de CINCUENTA MIL PESETAS por cada persona an-
lizada. El precio señalado es para sufragar el gasto de reactivos y la amortización de instrumen-
tal sin que en él se incluyan los honorarios del perito en caso de comparecencia ante los Tribuna-
les.

2º.- Que los de Madrid deben recoger de la Secretaría de la Escuela de Medicina legal, carta de pago
del importe de la prueba para ingresarlo en el Banco de Madrid, sito en Osa Bermúdez 63, cuenta co-
rriente nº 62.940. Una vez cumplimentada será entregada en esa Escuela.

Que los de fuera de Madrid pueden realizar el ingreso mediante una transferencia a la cuenta
corriente arriba indicada, en la que se especificará que el ingreso se hace a la **ESQUELA DE MEDI-
LEGAL PARA PRUEBAS BIOLOGICAS**, remitiéndose a la Secretaría de esta Escuela fotocopia de dicho
so.

3º.- Si algún Juzgado o Tribunal entendiera del caso, deberíamos indicar a continuación el número
procedimiento y del Juzgado así como los datos y teléfonos de los Abogados y Procuradores de ambas
partes.

.....a de19

FIRMA DEL PRESUNTO PADRE

FIRMA DE LA MADRE



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGIA
Y LEGISLACION SANITARIA

FACULTAD DE MEDICINA

PABELLON 7
TELEF. 394 19 59

FAX: 394 16 06

CIUDAD UNIVERSITARIA
28040 MADRID

Fecha: 18 de Mayo - 1993

P.P : Juan

M : Iris

H : Ana

SISTEMAS		P.P	M	H	I.P			PRUEBA INVERSA				
ABO	ANTI - A	O	+	O	1.52				A ₁	A ₂	B	O
	ANTI - B	O	O	O						+	+	
	ANTI - A ₁									O	+	
	ANTI - H									+	+	
MNSs	M	+	+	+	1.66							
	N	+	+	O								
	S	+	O	+								
	s	+	+	+								
Rh	D	+	+	+	1.04							
	C	+	+	+								
	c	+	+	O								
	E	+	O	O								
	e	+	+	+								
	C ^w	O	O	O								
Kell	K	O	+	O	1.05							
	k	+	+	+								
Duffy	a	+	O	O	0.89							
	b	+	+	+								
Kidd	a	+	+	+	1.96							
	b	O	O	O								
P ₁												
	C ^o b	O	+	O	1.05							
	P ₁	+	+	+	1.16							
Lewis	a	O	O	O	-							
	b	O	O	+								
Proteinas y Enzimas	Hp	2.2	2.2	2.2	1.85							
	Gc	2.15	15.15	15.15	0.87							
	Pi	M ₁ . M ₁	M ₁ . M ₂	M ₁ . M ₁	1.52							
	Tf	C ₁ . C ₁	C ₁ . C ₁	C ₁ . C ₁	1.30							
	PGM ₁	1+.1+	1+.2+	1+.1+	1.61							
	AcP	B.C	A.B	A.B	0.52							
	Orm	F.F	F.F	F.F	2.23							
	α ₂ HS	1.1	1.2	1.1	1.40			8.31				
HLA	HLA-A	A29. A32	A3.A -	A3.A32	10.7538			51.79				
	HLA-B	B55. B44	B44. B2	B44. B -								
	HLA-C	CW3. CW -	CW4. CW5	CW3. CW5	4.76							
	Cw							24.85 = 24.90				

18 de mayo Juan XX

ABO H= A A ₁ M= 0 1,52 P= 0	MNSS H= MS \bar{S} M= MS \bar{S} 1,66 P= MS \bar{S}	Rh H= DC \check{C} e M= DC \check{C} e 1,04 P= DC \check{C} e
Kell H= k M= K.k 1,05 P= k	Duffy H= Fyb= a ⁻ b ⁺ M= Fyb= a ⁻ b ⁺ 0,89 P= Fyb= a ⁺ b ⁺	Kidd H= Jk ^a = a ⁺ b ⁻ M= Jk ^a = a ⁺ b ⁻ 1,96 P= Jk ^a = a ⁺ b ⁻
Co^b H= O M= + 1,05 P= O	P₁ H= + M= + 1,16 P= +	Lewis H= Le ^b = a ⁻ b ⁺ M= Le ^b = 0 0 -- P= Le ^b = 0 0

HAPTOGLOBINAS

HP

H= 22 Hp¹= 0,459
M= 22 Hp²= 0,541
P= 22

M 2 PB 2 PP 2 HA= 2

1 1 * 1 = 1 1 * 0,541 = 0,541

PP= 1

HA= 0,544

IP= 1/0,544= 1,85

IP= 1,85

PROTEINA GC

GC

H= 1S.1S GC¹= 0,572
M= 1S.1S GC²= 0,308
P= 2.1S

M 1S PB 1S PP 1S HA= 1S

1 1 * 0,5 = 0,5 1 * 0,572 = 0,572

PP= 1

HA= 0,572

IP= 1/0,572= 0,874 ; IP = 0,87

18 de mayo
Juan X X

ALFA 1 ANTITRIPSINA

Pi

H= M₁ M₁
M= M₁ M₂
P= M₁ M₁

M¹= 0,660
M²= 0,115

M M₁ PB M₁ PP M₁ HA= M₁

0,5 0,5 * 1 = 0,5 0,5 * 0,660 = 0,33

PP= 0,5

HA= 0,33

IP= 0,5/0,33= 1,51515 ≈ 1,52 ;

IP = 1,52

TRANSFERRINAS

Tf

H= C₁ C₁
M= C₁ C₁
P= C₁ C₁

TF^{C1}= 0,770

M C₁ PB C₁ PP C₁ HA C₁

1 1 * 1 = 1 1 * 0,770 = 0,770

PP= 1

HA= 0,770

IP= 1/0,770= 1,298 ≈ 1,30 ;

IP = 1,30

FOSFOGLUCOMUTASA 1

PGM₁

H= 1⁺ 1⁺
M= 1⁺ 2⁺
P= 1⁺ 1⁺

PGM¹⁺= 0,621
PGM²⁺= 0,211

M 1⁺ PB 1⁺ PP 1⁺ HA= 1⁺

0,5

0,5 * 1= 0,5

0,5 * 0,621= 0,3105

PP= 0,5

HA= 0,3105

IP= 0,5/0,3105= 1,610

IP = 1,61

FOSFATASA ACIDA

ACP

H= AB
M= AB
P= CB

50% A - 50% B

FG

A= 0,278
B= 0,686
C= 0,036

1) M A PB B HA- (B)

0,5 0,5 * 0,5= 0,25

0,5 * 0,686= 0,343

2) M B PB A HA- (A)

0,5 0,5 * 0= 0

0,5 * 0,278= 0,139

PP= 0,25 + 0= 0,25

HA= 0,343 + 0,139= 0,482

IP= 0,25/0,482= 0,518672

IP≈0,52

OROSOMUCOIDE

Orm

H= F F
M= F S
P= F F

$Or_F^1 = 0,448$
 $Or_S^2 = 0,552$

M F PB F PP F HA= F

1 1 * 1 = 1 0,5 * 0,448 = 0,448

PP= 1 HA= 0,448

IP= 1/0,448 = 2,232 = 2,23 ;

IP = 2,23

ALFA₂ HS

α_2H_2

H= 11
M= 12
P= 11

$\alpha_2HS^1 = 0,7147$
 $\alpha_2HS^1 = 0,2770$

M 2 PB 1 PP 1 HA= 1

0,5 0,5 * 1 = 1 0,5 * 0,7147 = 0,35735

PP= 0,5 HA= 0,35735

IP= 1/0,35735 = 1,399 ≈ 1 ;

IP = 1

HLA

HAPLOTIPOS

$$PP = A_{29} A_{32} B_{55} B_{44} = A_{29} B_{55} (0,00044)[1] A_{29} B_{44} (0,02032)[2] \\ A_{52} B_{55} (0,00065)[3] B_{32} B_{44} (0,00511)[4]$$

$$M = A_3 B_{44} B_{50} = A_3 B_{44} (0,00668)[1] A_3 B_{50} (0,00075)[2] \\ A-B_{44} (0,00376)[3] A-B_{50} (0,00027)[4]$$

$$H = A_3 A_{32} B_{44} = A_3 B_{44} (0,00668) A_3 B- (0,00589) \\ A_{32} B_{44} (0,00511) A_{32} B- (0,00166)$$

GENOTIPO MADRE

$$\% \quad 1/2\%$$

$$A_3 B_{44}/A_3 B_{50} = 2 * [1] * [2] = 0,0000100 = 0,528 = (0,2604) =$$

$$A_3 B_{44}/A- B_{50} = 2 * [1] * [4] = 0,0000036 = 0,1875 = (0,09375) =$$

$$A- B_{44}/A_3 B_{50} = 2 * [3] * [2] = 0,0000056 = 0,2917 = (0,1458) =$$

192

$A_3 B_{44}$	$A_3 B_{50}$	$A-B_{44}$	$A-B_{50}$	
0,2604	0,2604	0	0	
0,09375	0	0	0,09375	
0	0,1458	0,1458	0	
0,35415	0,4062	0,1458	0,09375	%

GENOTIPO PADRE

% 1/2%

$$A_{29} B_{55}/A_{32} B_{44} = 2 * [1] * [4] = 0,0000045 = 0,1456 = (0,0728) =$$

$$A_{29} B_{44}/A_{32} B_{55} = 2 * [2] * [3] = 0,0000264 = 0,85437 = (0,4272) =$$

309

$A_{29}B_{55}$	$A_{29}B_{44}$	$A_{32}B_{55}$	$A_{32}B_{44}$	
0,0728	0	0	0,0728	
0	0,4272	0,4272	0	
0	0,1458	0,1458	0	
0,0728	0,4272	0,4272	0,0728	%

NIÑO DESDE...

MADRE CHANCE POSIBLE PADRE

A_3B_{44} 1 $A_{32}B_{44}$
 $A_{32}B-$

P. P. X HOMBRE AL AZAR Y

$$1 * 0,0728 = 0,0728 \quad 1 * 0,00511 = 0,00511$$

$$1 * 0 \quad 1 * 0,00166 = 0,00166$$

0,00677

$$IP=X/Y=0,0728/0,00677= 10,753323 * 4,76= 51,19$$

C_w

PP= C_{w3}

M= $C_{w4} C_{w5}$

H= $C_{w3} C_{w5}$

Probabilidad de un hombre C_{w3} en ser:

- $C_{w3} C_{w3}$

- $C_{w3} C_{w-}$

Frecuencia: $C_{w3} = 0,126$

$C_{w-} = 0,25$

$C_{w3} C_{w3} = 0,126^2 = 0,0159$ ----- 0,20%

$C_{w3} C_{w-} = 2 (0,126) (0,25) = 0,063$ ----- 0,80%

0,0789

Valor de X= 0,60 (¿probabilidad de producir C_{w3} un hombre C_{w3} ?) si
es $C_{w3} C_{w3}$ el 100% de sus espermios llevan $C_{w3} = 0,20$
Si es $C_{w3} C_{w-}$ el 50% de sus espermios llevan = $0,80/2 = 0,40$

0,60

Valor Y= Frecuencia= $C_{w3} = 0,126$

X/Y= 4,76

IP= 4,76

Multiplicando

$$5,8542 * 8,31 * 51,19 = 2490$$

Como con IP de 400 la paternidad está "prácticamente probada", se divide el índice de paternidad (IP) hallado entre 400:

$IP = 2,490/400 = 0,00622 = 622$ que es más de 6 veces que lo que se necesita para una "paternidad prácticamente probada", y que aplicando la fórmula de probabilidad de paternidad :

$$W = IP/IP+1$$

decimos

$$W = 2,490/2,490+1 = 2,490/2,491 = 0,999598 = \underline{\underline{99,9598 \%}}$$

de probabilidades de paternidad. Por todo ello, la paternidad de Juan X X, sobre la niña Ana Y Y, está demostrada "más allá de cualquier duda probable en un 99,9598 %



ESCUELA DE MEDICINA LEGAL

Universidad Complutense

9634
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE MEDICINA LEGAL

15 JUN. 1993

SECRETARIA
SALIDAN.º 12402

Ciudad Universitaria
Facultad de Medicina
Pabellón núm. 7
Teléfs. 243 32 45
582 15 74
28040 Madrid

El pasado día 18 de Mayo de 1993 se tomaron muestras sanguíneas a las siguientes personas:

Presunto Padre=D.JUAN IGNACIO

Madre= Dña IRIS

Hija= ANA

A los tres se les tomaron huellas dactilares del dedo índice. Las fotos de la niña se adjunta al margen

La investigación biológica se hizo por el estudio de los marcadores genéticos correspondientes a 4 sistemas: grupos sanguíneos, polimorfismos proteicos, enzimas eritrocitarias y sistema HLA.

Con tal batería analítica un hombre que no sea el padre tiene más del 99,9% de oportunidades de demostrarlo por el análisis, mientras que cuando sí es el padre, además de no ser excluido, se le da unas probabilidades de paternidad superiores al 99,9%.

SISTEMA	P. PADRE	MADRE	HIJA	EXCLUSION	INDICE PATERNIDAD
ABO	O	A	O	no	1,52
MNSs	MNSs	MNs	MSs	no	1,66
Rh	DCcEe	DCce	DCe	no	1,04
Kell	K-k+	K+k+	K-k+	no	1,05
Duffy	ab	a	a	no	0,89
Kidd	a+b-	a+b-	a+b-	no	1,96
Co(b)	-	+	-	no	1,05
PI	+	+	+	no	1,16
Hp	22	22	22	no	1,85
Gc	2 1s	1s 1s	1s 1s	no	0,87
PI	M1 M1	M1 M2	M1 M1	no	1,52
Tf	C1 C1	C1 C1	C1 C1	no	1,30
a2 HS	11	21	11	no	1,40
PGM 1	1+ 1+	1+ 2+	1+ 1+	no	1,61
AcP	BC	AB	AB	no	0,52
Orm	FF	FF	FF	no	2,23
HLA-A	A29 A32	A3	A3 A32	no	51,19
HLA-B	B55 B44	B44 B50	B44		
HLA-Cw	Cw3	Cw4 Cw5	Cw3 Cw5		

CONCLUSIONES

- 1ª no se ha encontrado ningún tipo de exclusión de paternidad. El Índice de Paternidad acumulado asciende a 2.490, que se corresponde a unas probabilidades de paternidad del 99,95986%
- 2ª estas cifras son más de 6 veces las necesarias para una "paternidad prácticamente demostrada" (Tablas del Prof. Hummel)
- 3ª por lo tanto la paternidad de D. Juan Ignacio REGLERO ENEDAGUILA sobre la niña ANA REGLERO GOMEZ ha quedado demostrada.

V.Bo el Director

EL PERITO

MADRID a 15 de JUNIO de 1993
Prof. Dr. Jose MA RUIZ DE LA CUESTA



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGIA
Y LEGISLACION SANITARIA

FACULTAD DE MEDICINA

PABELLON 7
TELEF. 394 19 59
FAX: 394 16 06
CIUDAD UNIVERSITARIA
28040 MADRID

Fecha: 23 de marzo - 1993

P.P : Manuel

M : Almudena

H : Pablo

SISTEMAS		P.P	M	H	I.P			PRUEBA INVERSA					
ABO	Anti - A	+	+	+	1.32				A ₁	A ₂	B	O	
	Anti - B	O	O	O						O	+		
	Anti - A ₁	+	+	+						O	+		
	Anti - H									O	+		
MNS _S	M	+	+	+	0.91								
	N	+	O	O									
	S	O	+	+									
	\bar{S}	+	+	+									
Rh	D	+	+	+	1.05								
	C	+	+	+									
	\bar{c}	+	+	O									
	E	O	O	O									
	e	+	+	+									
	C ^w												
Kell	K	O	O	O	1.05								
	\bar{k}	+	+	+									
Duffy	a	O	O	O	1.75								
	b	+	+	+									
Kidd	a	+	+	+	1								
	b	+	+	+									
P ₁													
	C ^o b	O	O	O									1.05
	P ₁	O	+	O									2.86
Lewis	a	O	O	O	1.20		8.35						
	b	+	+	+									
Proteinas y Enzimas	Hp	2.1	2.1	2.1	1								
	Gc	2.15	2.15	2.15	1								
	Pi	M ₁ .M ₁	M ₁ .M ₂	M ₂ .M ₁	1.52								
	Tf	C1. C1	C1. C1	C1. C1	1.30								
	PGM ₁	1+.2+	1+.1+	1+.2+	2.37								
	AcP	B.B	A.B	B.B	1.46								
	Orm	F.F	F.S	F.F	2.23								
	α_2 HS	1.1	2.1	2.1	1			15.25					
HLA	HLA-A	A ₂ .A-	A ₁ .A ₁	A ₁ .A ₂	45.68		331.18						
	HLA-B	B ₂ .B ₃ ?	B ₅ .B ₅	B ₂ .B ₅									
	HLA-Cw	Cw ₆ .Cw?	Cw ₇ . -	Cw ₇ . -	7.25								
	Cw												
						IP→	42.172						

23 de marzo
P.P Manuel

ABO H= A A ₁ M= A A ₁ 1,32 P= A A ₁	MNSS A= MSS M= MSS 0,91 P= MSS	Rh H= DCče= 5 M= DCče= 2 1,05 P= DCče= 2
Kell H= k M= k 1,05 P= k	Duffy H= Fyb= bb= M= Fyb= bb= 1,63 P= Fyb= bb=	Kidd H=Jka-Jkb=a ⁺ b ⁺ M=Jka-Jkb=a ⁺ b ⁺ 0,93 P=Jka-Jkb=a ⁺ b ⁺
Co^b H= O M= O 1,05 P= O	P₁ H= O M= + 2,86 P= O	Lewis H=Le ^b =a ⁻ b ⁺ -Se M=Le ^b =a ⁻ b ⁺ -Se 1,20 P=Le ^b =a ⁻ b ⁺ -Se

HAPTOGLOBINAS

HP

H= 21 Hp¹= 0,459
M= 21 Hp²= 0,541
P= 21

M 2 PB 1 PP 1 HA 1

1 1 * 0,5= 0,5 1 * 0,459= 0,459

M 1 PB 2 PP 2 HA 2

1 1 * 0,5= 0,5 1 * 0,541= 0,541

PP= 0,5 + 0,5= 1 HA= 0,459 + 0,541= 1

IP= 1/1= 1

PROTEINA GC

GC

$$H = 2 * 15$$

$$GC^1 = 0,572$$

$$M = 2 * 15$$

$$GC^2 = 0,308$$

$$P = 2 * 15$$

$$M \ 2 \ PB \ 15 \ PP \ 15 \ HA \ 15$$

$$1 \qquad 1 * 0,5 = 0,5 \qquad 1 * 0,572 = 0,572$$

$$M \ 15 \ PB \ 2 \ PP \ 2 \ HA \ 2$$

$$1 \qquad 1 * 0,5 = 0,5 \qquad 1 * 0,308 = 0,308$$

$$PP = 0,5 + 0,5 = 1$$

$$HA = 0,572 + 0,308 = 0,88$$

$$IP = 1/0,88 = 1,13 \ ; \ IP = \underline{1}$$

ALFA 1 ANTITRIPSINA

Pi

$$H = M_1 \ M_1$$

$$M^1 = 0,660$$

$$M = M_1 \ M_2$$

$$M^2 = 0,115$$

$$P = M_1 \ M_1$$

$$M \ M_1 \ PB \ M_1 \ PP \ M_1 \ HA \ M_1$$

$$0,5 \qquad 0,5 * 1 = 0,5 \qquad 1 * 0,660 = 0,33$$

$$PP = 0,5$$

$$HA = 0,33$$

$$IP = 0,5/0,33 = 1,515 \approx 1,52 \ ;$$

$$IP = \underline{1,52}$$

TRANSFERRINA

Tf

$$H = C_1 C_1$$

$$C^1 = 0,770$$

$$M = C_1 C_1$$

$$P = C_1 C_1$$

$$M \ C_1 \ PB \ C_1 \ PP \ C_1 \ HA \ C_1$$

$$1$$

$$1 * 1 = 1$$

$$1 * 0,770 = 0,770$$

$$PP = 1$$

$$HA = 0,770$$

$$IP = 1/0,770 = 1,298 \approx 1,30 ;$$

$$IP = \underline{1,30}$$

25 de marzo

Manuel

FOSFOGLUTASA 1

PGM₁

$$H = 1^+ 2^+$$

$$PGM^{1+} = 0,621$$

$$M = 1^+ 1^+$$

$$PGM^{2+} = 0,211$$

$$P = 1^+ 2^+$$

$$M \ 1^+ \ PB \ 2^+ \ PP \ 2^+ \ HA \ 2^+$$

$$0,5$$

$$0,5 * 0,5 = 0,25$$

$$0,5 * 0,211 = 0,1055$$

$$PP = 0,25$$

$$HA = 0,1055$$

$$IP = 0,5/0,343 = 1,457 \approx 1,46 ;$$

$$IP = \underline{1,46}$$

OROSOMUCOIDE

Orm

H= F F

$OR^F = 0,448$

M= F S

$OR^S = 0,552$

P= F F

M F PB F PP F HA F

0,5

$0,5 * 1 = 0,5$

$0,5 * 0,448 = 0,224$

PP= 0,5

HA= 0,224

$IP = 0,5/0,224 = 2,232 = 2,23 ;$

IP = 2,23

ALFA 2 HS

α_2H_2

H= 21

$\alpha_2HS^1 = 0,7147$

M= 21

$\alpha_2HS^1 = 0,2770$

P= 11

M 2 PB 1 PP 1 HA 1

1

$1 * 1 = 1$

$1 * 0,7147 = 0,7147$

PP= 1

HA= 0,7147

$IP = 1/0,7147 = 1,399 \approx 1 ;$

IP = 1

23 de marzo

HLA

PP= A ₂ A-	B ₈ B ₃₇	C _w 6 C _w 7
M= A ₁ A ₁₁	B ₅₁ B ₅₆	C _w 1 C _w -
H= A ₁ A ₂	B ₈ B ₅₁	C _w 7 C _w -

La madre pasó al niño= A₁ B₅₁

El padre biológico le pasará= A₂ B₈ (C_w 7)

P.P = A₂ B₈= 0,01007
A₂ B₃₇= 0,00070
A- B₈= 0,00116
A- B₃₇= 0,00017

Arreglos:

A₂ B₈/A₂ B₃₇= 0,0000141= 0,74
A₂ B₈/A- B₃₇= 0,0000034= 0,18
A- B₈/A₂ B₃₇= 0,0000016= 0,08

El favorable

A ₂ B ₈ /A ₂ B ₃₇ = 0,74	en el 50% dará A ₂ B ₈ = 0,37
A ₂ B ₈ /A- B ₃₇ = 0,18	en el 50% dará A ₂ B ₈ = 0,09

0,46

Produce espermio con A ₂ B ₈ en 0,46	X
El espermio al azar que sea A ₂ B ₈ = 0,01007	Y

X/Y= 45,68

El hijo tiene de su madre C_w -

El hijo tiene de su P.B. C_w7

Frecuencia $C_w7 = 0,247$

El P.P. pasa el C_w7 en 0,5

El H al azar en 0,243

$IP = X/Y = 2,057$

Luego:

$$8,35 * 15,25 * 331,18 \approx 42.172$$

Como con IP de 400 la paternidad está "prácticamente probada", se divide el índice de paternidad (IP) hallada entre 400.

$$IP = 42.172/400 = 105$$

Esto quiere decir que son 105 veces más que lo que se necesita para una paternidad "prácticamente probada".

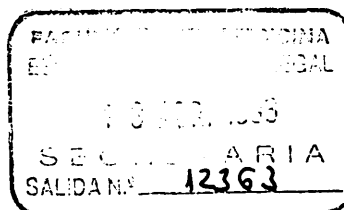
Luego aplicando la fórmula de las probabilidades de paternidad (W):

$$W = IP/IP+1$$

Tenemos:

$$W = 42.172/42.172 + 1 = 42,172/42.173 = 99,9976$$

Con 99,9976 como valor, decimos que la paternidad de Manuel X X sobre el niño Pablo X X, está demostrada "más allá de cualquier duda probable".



Ciudad Universitaria
Facultad de Medicina
Pabellón núm. 7
Teléfs. 243 32 45
582 15 74
28040 Madrid

ESCUELA DE MEDICINA LEGAL

Universidad Complutense



El pasado día 23 de Marzo de 1993, comparecieron de mutuo acuerdo, en el servicio de Biología Forense de esta Escuela, las siguientes personas:

Presunto Padre=MANUEL [REDACTED]

Madre =Almudena [REDACTED]

Hijo =Pablo [REDACTED]

A los tres se les tomaron huellas del dedo índice, figurando la fotografía del niño al margen del informe.

La investigación de paternidad se hizo por el estudio de los marcadores genéticos de 4 sistemas: grupos, proteínas, enzimas y HLA

Los resultados se adjuntan en forma tabulada, con indicación de si hay o no exclusión de paternidad y los índices de paternidad.

SISTEMA	P.PADRE	MADRE	HIJO	EXCL.	IND.PATERNIDAD
ABO	A1	A1	A1	no	1,32
MNSs	MNs	MSs	MSs	no	0,91
Rh	DCce	DCce	DCe	no	1,05
Kell	-	-	-	no	1,05
Duffy	b	b	b	no	1,75
Kidd	ab	ab	ab	no	1
Co(b)	-	-	-	no	1,05
Lw	b	b	b	no	1,20
Hp	21	21	21	no	1
Gc	2 1s	2 1s	2 1s	no	1
Pi	M1 M1	M1 M1	M1 M1	no	1,52
Tf	C1 C1	C1 C1	C1 C1	no	1,30
PGM-1	1+ 2+	1+ 1+	1+ 2+	no	2,37
ACP	BB	AB	BB	no	1,46
Orn	FF	FS	FF	no	2,23
HLA-A	2,-	1, 11	1, 2	no	45,68
HLA-B	8, 37	51, 56	8, 51		
HLA-Cw	6,7	1,-	7,-	no	7,25

CONCLUSIONES

- 1ª no se ha encontrado ningún tipo de exclusión de paternidad.
- 2ª el Índice de Paternidad acumulado es de 42.172, que significa unas probabilidades de paternidad del 99,9976%
- 3ª tales cifras son más de 105 veces las que se necesitan para una "paternidad prácticamente demostrada"
- 4ª por todo ello la paternidad biológica de D.MANUEL PLAZA PARIS sobre el niño PABLO KESSLER GARCIA ha quedado demostrada más allá de cualquier duda razonable.

V.Bº el Director

MADRID a 19 de ABRIL de 1993

El Perito

[Firma manuscrita]

Prof.Dr.D.Jose Mª RUIZ de la CUESTA

AMPLIACIÓN BIBLIOGRÁFICA.....

1.- B. E. DODD- P. J. LINCOLN
Inmunología de los Grupos Sanguíneos
Ed El Manual Moderno. 1976.

2.- C MEZA - N CORREA
Inmunohepatología. Principios y
Técnicas
Ed Mediterraneo . 1988

**3.- RUIZ DE LA CUESTA Y
CASCAJARES, JOSE MARIA.**
Los grupos ABO en Medicina Legal
1986

4.-GREMO ROSELLÓ ANA
Estudio de Polimorfismos Genéticos en
la Población Madrileña y su Aplicación
a la Investigación Biológica en la
Paternidad.

Tesis Doctoral. Departamento de Medicina
Legal. Universidad Complutense de Madrid.

**5.- LOPEZ ABADIA RODRIGO
ISABEL**
Estudio de Polimorfismos Genéticos
proteicos en su Aplicación al
Diagnóstico Individual de las Manchas
en Sangre.

Tesis Doctoral. departamento de Medicina
Legal. Universidad Complutense de Madrid-
1991.

6.- ALONSO ALONSO ANTONIO
Estudio del Polimorfismo Genético y de
otras Causas de Heterogeneidad
Electroforéticas de Enzimas Eritrocitarias
y Proteínas Plasmáticas Humanas
mediante Isoelectroenfoque.
Análisis Poblacional en Madrid y
Aplicaciones en Biología Forense.
Tesis Doctoral. Tesis Doctoral. Departamento
de Biología. Universidad Autónoma de Madrid.
1992.

7.- ESPINOZA GARCIA CARMEN
Polimorfismos Genéticos en la
Población de Almería y su aplicación a
la investigación de la Paternidad.
Tesis doctoral. Departamento de medicina
Legal. Universidad Complutense de Madrid
.1992

**8.- AMERICAN JOURNAL CLINIC
PATOLOGY**
A. J. C. P. Abril 1980 C.C. LEE

**9.- ALEMANI JORGE. CARRACEDO
ANGEL. RUIZ IMEEZ AGUILAR.
ALONSO ANTONIO. FERNANDEZ
COBOS LUIS. AVILO CHAVEZ
MANUEL.**
Utilización de Material Genético en
criminalística y Pruebas de Paternidad:
Aspectos Éticos, técnicos y Legales.
International Society for Forensic
Haemogenetics. ISFH. 1993.

José Carlos Bustamante Montoro